PARIJS

UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES

FACULTÉ DE MÉDECINE NECKER – ENFANTS MALADES

ANNÉE 1973 N°

90

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PAR

GILBERT BRUDIEU né le 18 avril 1941

à PARIS

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 1973

●

étude de l'alpha-1 glycoprotéine acide (orosomucoïde) chez l'enfant application aux rhumatismes infectieux

●

PRÉSIDENT. MONSIEUR RAYMOND MANDE PROFESSEUR

UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES

FACULTÉ DE MÉDECINE NECKER – ENFANTS MALADES

ANNÉE 1973 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PAR

GILBERT BRUDIEU né le 18 avril 1941

à PARIS

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 1973

●

étude de l'alpha-1 glycoprotéine acide (orosomucoïde) chez l'enfant application aux rhumatismes infectieux

●

PRÉSIDENT. MONSIEUR RAYMOND MANDE PROFESSEUR

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MON MAITRE,

LE PROFESSEUR ANDRE HERRAULT.

AU PROFESSEUR RAYMOND MANDE.

AU DOCTEUR JULIEN COHEN-SOLAL.

AU PROFESSEUR JEAN AGNERAY,

et à tous ses collaborateurs
de la PHARMACIE CENTRALE
de L'HOPITAL HEROLD

A TOUS MES AMIS
qui m'ont grandement aidé
dans la réalisation technique
de ce travail.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543920_0026

INTRODUCTION

TROUVER DES TEMOINS BIOLOGIQUES différents des examens actuellement utilisés afin d'apprécier l'intensité du syndrome inflammatoire dans le rhumatisme articulaire aigu de l'enfant, nous a amené à aborder le dosage de certaines glycoprotéines du sérum.

Cette étude a fait depuis quelques années des progrès considérables, mais si les biochimistes avancent à pas de géants, les cliniciens et les physio-pathologistes n'ont guère amélioré la compréhension du rôle physiopathologique de ces molécules.

C'est pourquoi il nous a semblé utile, en 1971-73, de faire le point de cette question en essayant de rassembler dans une même étude, les principales connaissances acquises sur ce problème.

LE PREMIER CHAPITRE concernera la chimie des glycoprotéines ; seront exposées successivement :

- la constitution des glyco-protéines,
- les particularités des glyco-protéines, acido-solubles,
- les étapes historiques de leur découverte,
- les méthodes d'isolement,
- les valeurs normales selon les méthodes de dosage.

Dans UNE SECONDE PARTIE, nous tâcherons de donner les éléments du métabolisme actuellement connus ou soupçonnés concernant :

- la biosynthèse,
- le catabolisme,
- la physio-pathologie.

LE TROISIEME CHAPITRE concernera une étude faite à l'Hôpital Hérold entre 1965 et 1968, dans laquelle le taux des glyco-protéines acido-solubles a été étudié chez environ 150 malades, alors que 250 sérums normaux ont permis une évaluation des taux de base.

Enfin, dans UNE QUATRIEME PARTIE, nous ferons part de notre propre expérience dans l'étude de l'évolution du taux normal des glycoprotéines chez l'enfant de la naissance à 10 ans, dans l'examen du taux pathologique de certaines frac-

tions acido-solubles lors de syndromes inflammatoires, en essayant d'en tirer des conclusions sur l'intérêt de ce dosage dans certaines circonstances pathologiques.

CHAPITRE PREMIER

A - GENERALITES ET CONSTITUTION DES GLYCO-PROTEINES SERIQUES

I - GENERALITES

II - CONSTITUTION

III - GLYCO-PROTEINES ACIDO-SOLUBLES

B - ETAPES HISTORIQUES DE LA DECOUVERTE DES SEROMUCOIDES

C - LES METHODES D'ISOLEMENT

I - CARACTERES DE PRECIPITATION

II - MOBILITE ELECTROPHORETIQUE

III - POIDS MOLECULAIRE

D - CARACTERISATION IMMUNO-CHIMIQUE

E - METHODES DE DOSAGE

I - DOSAGE CHIMIQUE DES GLYCO-PROTEINES

II - DOSAGE CHIMIQUE DE L'OROSOMUCOIDE

III - DOSAGE IMMUNOLOGIQUE DES GLYCO-PROTEINES

A - GENERALITES ET CONSTITUTION

I - GENERALITES SUR LES GLYCO-PROTEINES SERIQUES

Caractérisées par une copule glucidique importante (3 % de la molécule), difficilement séparables de la chaîne polypeptidique, les glyco-protéines ont fait l'objet de npmbreux travaux tendant à préciser leur constitution, leur biochimie et leur physio-pathologie.

Dans les quinze dernières années, l'utilisation clinique de ces dosages a mis l'accent sur une fraction des glycoprotéines, soluble dans l'acide phytique, qui semble un témoin intéressant de l'activité de syndromes inflammatoires aigus ou chroniques.

II - CONSTITUTION

La chaîne polypeptidique est l'élément principal de la molécule ; elle n'est pas essentiellement différente de celle retrouvée dans les autres protéines.

Sur ce squelette viennent se greffer des chaînes polyosidiques, plus ou moins longues et plus ou moins nombreuses. Ces oses sont rattachés au peptide par des liaisons de covalence dont on distingue :

- la liaison N-osidyle entre asparagine et N-acétyl hexosamine : c'est le cas de la transferrine et des gammaglobulines.
- la liaison O-osidyle entre sérine ou thréonine et un radical N-acétyl hexosamine.

Ces molécules constituent le premier maillon des chaînes osidiques. Celles-ci peuvent contenir d'autres molécules d'hexosamines et surtout des molécules d'oses ou d'acides sialiques ; parmi les oses, citons des hexoses : galactose et mannose (jusqu'à

ce jour, jamais le glucose n'a été caractérisé), un méthylpentose, le fucose. L'acide N-acétyl neuraminique est l'acide sialique le plus couramment rencontré. Il faut remarquer que le fucose et l'acide N-acétyl neuraminique occupent des positions terminales sur les chaînes osidiques. Enfin, il n'existe pas d'acides uroniques dans les glyco-protéines sériques.

Au total, une glyco-protéine sérique se caractérise par la somme des éléments suivants :
- une chaîne polypeptidique sur laquelle se branchent des éléments polyosidiques (oses, osamines, acides sialiques), mais on ne retrouve jamais ni glucose, ni acides uroniques.

III - GLYCO-PROTEINES ACIDO-SOLUBLES

Parmi les glyco-protéines sériques, un groupe se différencie nettement des autres par ses caractères de solubilité et sa composition chimique. Ces glyco-protéines possèdent une teneur élevée en glucides et ne sont précipitées ni par l'alcool bouillant ni par les acides perchlorique 0,6 N ou phytique 0,2 N, ni par l'acide trichloracétique qui est pourtant un défèquant classique des protéines sériques. Cette fraction représente sensiblement 1 % de l'ensemble des protéines sériques. Ce groupe est désigné sous le nom de séromucoïdes mais la nouvelle nomenclature leur réserve l'appellation plus parlante de glyco-protéines acido-solubles.

L'alpha-1 glyco-protéine acide est le constituant le plus important des glyco-protéines acido-solubles ; appelée encore orosomucoïde, sa structure a bien été étudiée mais n'est pas encore définitivement établie (aucune structure complète de glyco-protéines n'a d'ailleurs été encore totalement élucidée).

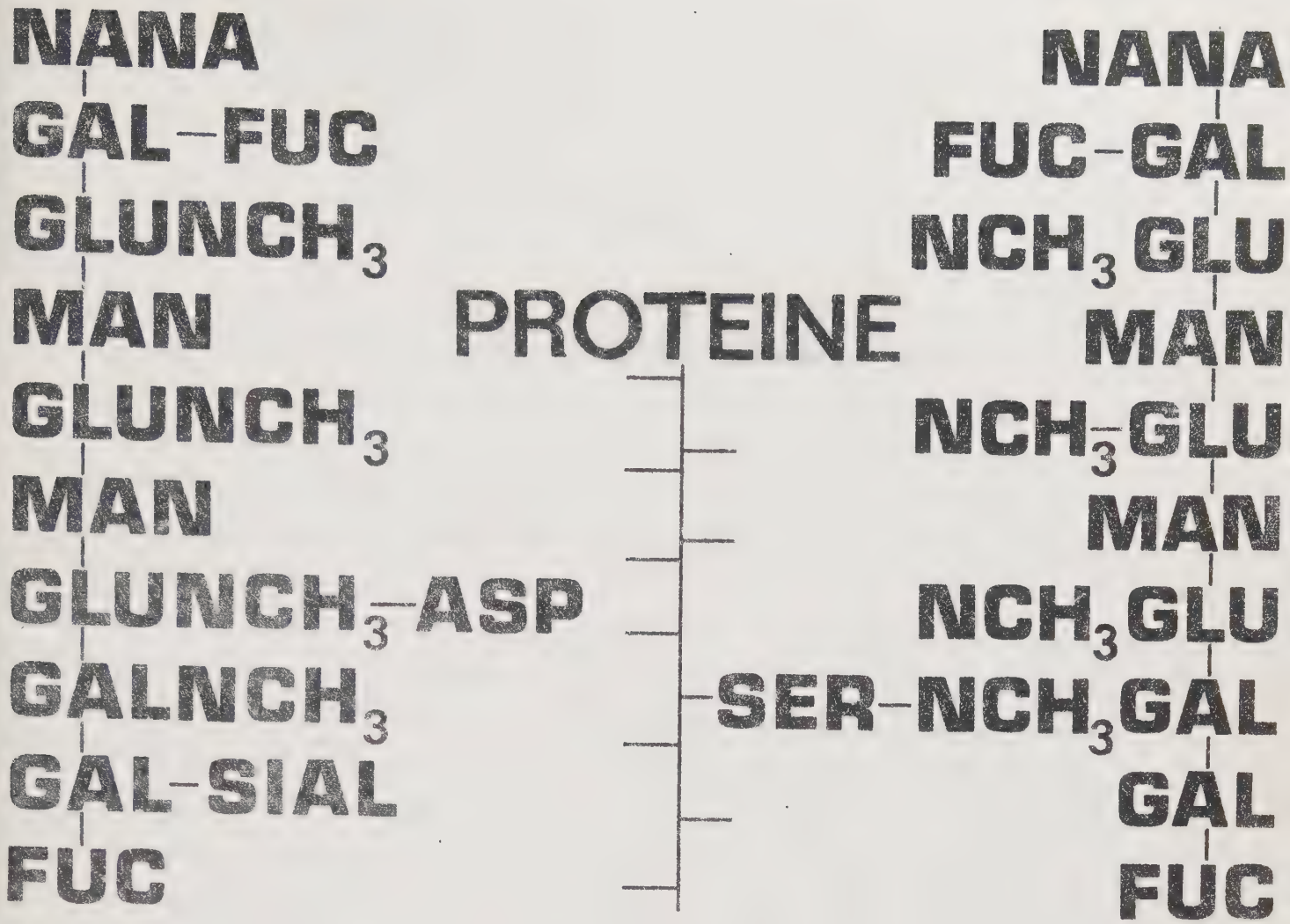
A l'heure actuelle, il apparait que la partie glucidique n'est jamais constituée d'un seul bloc, mais qu'elle est présente sous forme d'unités distinctes de poids moléculaires généralement variables.

Des études cinétiques d'hydrolyse acide ont montré que ces unités glucidiques libéraient d'abord l'acide N-acétyl neuraminique et le L-fucose, ce qui traduit une position externe de ces

deux composants ; ce résultat est confirmé par le fait que l'acide N-acétyl neuraminique est aisément détaché du reste de la molécule par des enzymes d'origine bactérienne ou virale (neuraminidase) ; cependant, dans l'alpha-1 glycoprotéine, une faible partie de l'acide neuraminique résiste à l'action de la neuraminidase.

Apparaissent ensuite dans l'hydrolysat le D-galactose et une importante proportion d'osamines. Le D-mannose et le reste des osamines, plus difficiles à libérer, sont donc en position interne.

L'acide neuraminique est généralement lié au galactose ; il peut l'être également à la N-acétyl glucosamine. Les restes sialyl peuvent être liés aux unités galactose par l'intermédiaire des -OH- situés en C3, C4, C6, tandis que les restes L-fucose semblent se rattacher principalement à l'-OH- en C3 des unités galactose.



STRUCTURE SUPPOSÉE DES CHAINES GLUCIDIQUES

NANA	: acide N-acétyl neutraminique
GAL	: galactose
NCH_3GAL	: N acétyl galactosamine
GLU	: glucose
NCH_3GLU	: N acétyl glucosamine
MAN	: mannose
ASP	: asparagine
FUC	: fucose
SER	: sérine
SIAL	: acide sialique

B - HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE DES SEROMUCOIDES

En 1948, Winzler a montré que l'acide perchlorique, 0,6 N précipitait toutes les holoprotéines et la plupart des glycoprotéines sériques. Cependant, 10 % des glycoprotéines totales restaient en solution ; ces glycoprotéines solubles, largement étudiées par Winzler et ses collaborateurs ont été progressivement identifiées.

Les séromucoïdes ont été d'abord séparés en deux composants de mobilité alpha-1 et alpha-2 à l'électrophorèse sur papier à pH 8,6 (Ferri). Puis Humphrey et Winzler, en 1949, pratiquent l'électrophorèse à pH 4,5, isolent deux composants dont les points isoélectriques sont plus bas que celui de l'albumine. De nouvelles expériences, faites en pH étagés de 2 à 8,9, permettent alors d'identifier trois composants dont le plus important migre dans la zone alpha-1 à pH 8,4.

En 1955, Markhan, travaillant à pH 4,6, retrouve les deux composants migrant comme les alpha-1 et les alpha-2 globulines.

Saint-Cyr, Courcon, Grabar (1958), démontrent que le séromucoïde acide est identique à l'orosomucoïde de Winzler.

Dans les années 1960, Biserte, Havez, Hayem-Levy, montrent, en plus de l'orosomucoïde, la présence de composants mineurs migrant dans les zones alpha-2, béta et gammaglobulines.

Dernièrement, les multiples études de Schultze, Herman, Heide, Agneray ont permis d'isoler dans la fraction sérique non précipitée par l'acide phytique 0,2 N, douze composés différents.

C - METHODES D'ISOLEMENT

En utilisant un ensemble de techniques fondées sur les propriétés physiques et chimiques particulières, on peut fractionner les multiples glycoprotéines présentes dans le sérum humain.

Selon leur spécificité individuelle, nous envisagerons successivement les méthodes fondées sur :

- les caractères de précipitation qui séparent les groupes de glycoprotéines.
- la mobilité électrophorétique en milieu tamponné alcalin à pH 8,2 ou 8,6 comme pour les holoprotéines ; on peut identifier et séparer certaines glycoprotéines par leur comportement en milieu acide (pH 3,9 ou 4,5).
- le poids moléculaire mis à profit pour le fractionnement en chromatographie de filtration sur gel de Sephadex G 200 ; cette séparation peut être très spécifique si elle est combinée à la séparation électrophorétique sur gel d'amidon.

I - LES CARACTERES DE PRECIPITATION

1° - Le relargage par le sulfate d'ammonium à demi-saturation et en pH neutre est parfois utilisé pour le fractionnement. C'est cependant la précipitation par l'acide phytique 0,2 N ou perchlorique 0,6 N qui est la plus courante pour éliminer les holoprotéines.

2° - Le fractionnement ethanolique ou par le rivanol complète le relargage.

Ces deux méthodes ont un intérêt essentiellement préparatif ; cependant, certaines glycoprotéines présentes en faible quantité dans le sérum, ne peuvent être préparées que par ces méthodes qui constituent alors la première étape du fraction-

nement et devront être complètées par d'autres techniques. Un tableau emprunté au travail d'Agneray montre ce que l'on peut tirer de ces deux méthodes. En même temps, on trouvera la liste des glycoprotéines déjà isolées.

II - LA MOBILITE ELECTROPHORETIQUE

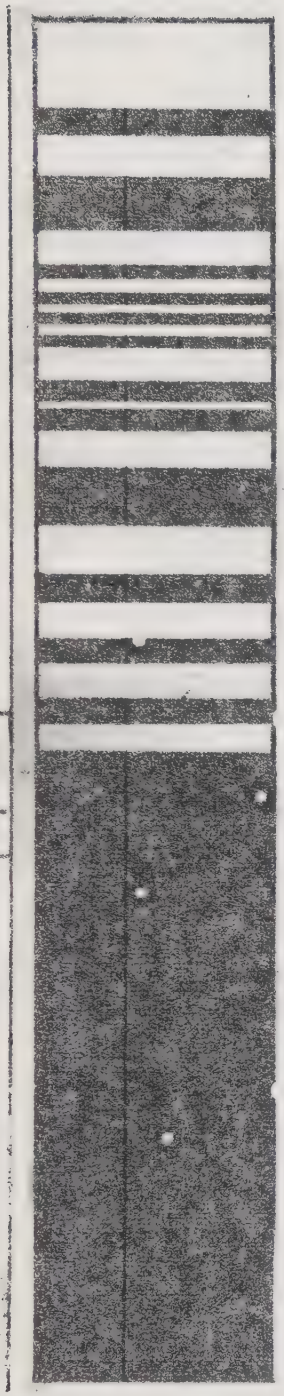
1° - L'électrophorèse à pH 8,6 caractérise trois groupes : les alpha-1 glycoprotéines, les alpha-2 glycoprotéines et les béta-glycoprotéines. Deux groupes mineurs sont représentés par des gammaglobulines et une fraction migrant dans la zone de la sérum-albumine.

2° - L'électrophorèse à pH acide (4,5 ou 3,9) sur papier et surtout en veine liquide isole presque spécifiquement l'orosomucoïde (pH 3,9).

3° - L'électrophorèse sur gel d'amidon ajoute à la séparation une filtration moléculaire des protéines.

III - LE POIDS MOLECULAIRE

L'ultracentrifugation ne possède qu'un pouvoir résolutif modéré ; des résultats bien meilleurs sont obtenus par la chromatographie sur Sephadex.



(+)

Zone "préalbumine"

A : préalbumine

B : glycoprotéine acide alpha 1

Zone "albumine"

C : antitrypsine alpha 1

Zone "post-albumine"

D : glycoprotéine alpha-1 "aisément précipitabl

E : glycoprotéine alpha-2 "HS"

F : glycoprotéine alpha-2 "Gc"

G : post-albumine 4,6 S

H : glycoprotéine alpha-1 "X"

Zone "alpha 2 rapide"

I : céruléoplasmine

J : haptoglobine type 1

Zone "beta"

K : transferrine

L : séromucoïde beta-1

M : glycoprotéine acide beta-2

Zone "alpha-beta"

N : haptoglobine type 2

O : inhibiteur de trypsine inter alpha 1 alpha

Zone "alpha lente"

P : macroglobuline alpha 2

Q : globuline gamma "A"

R : glycoprotéine beta 2

S : globulines gamma "M"

(-) Zone cathodique

T : globulines gamma "G"

Figure n° 2 - DIAGRAMME THEORIQUE DE L'ELECTROPHORESE EN GEL D'AMIDON DES GLYCOPROTEINES DU SERUM SANGUIN

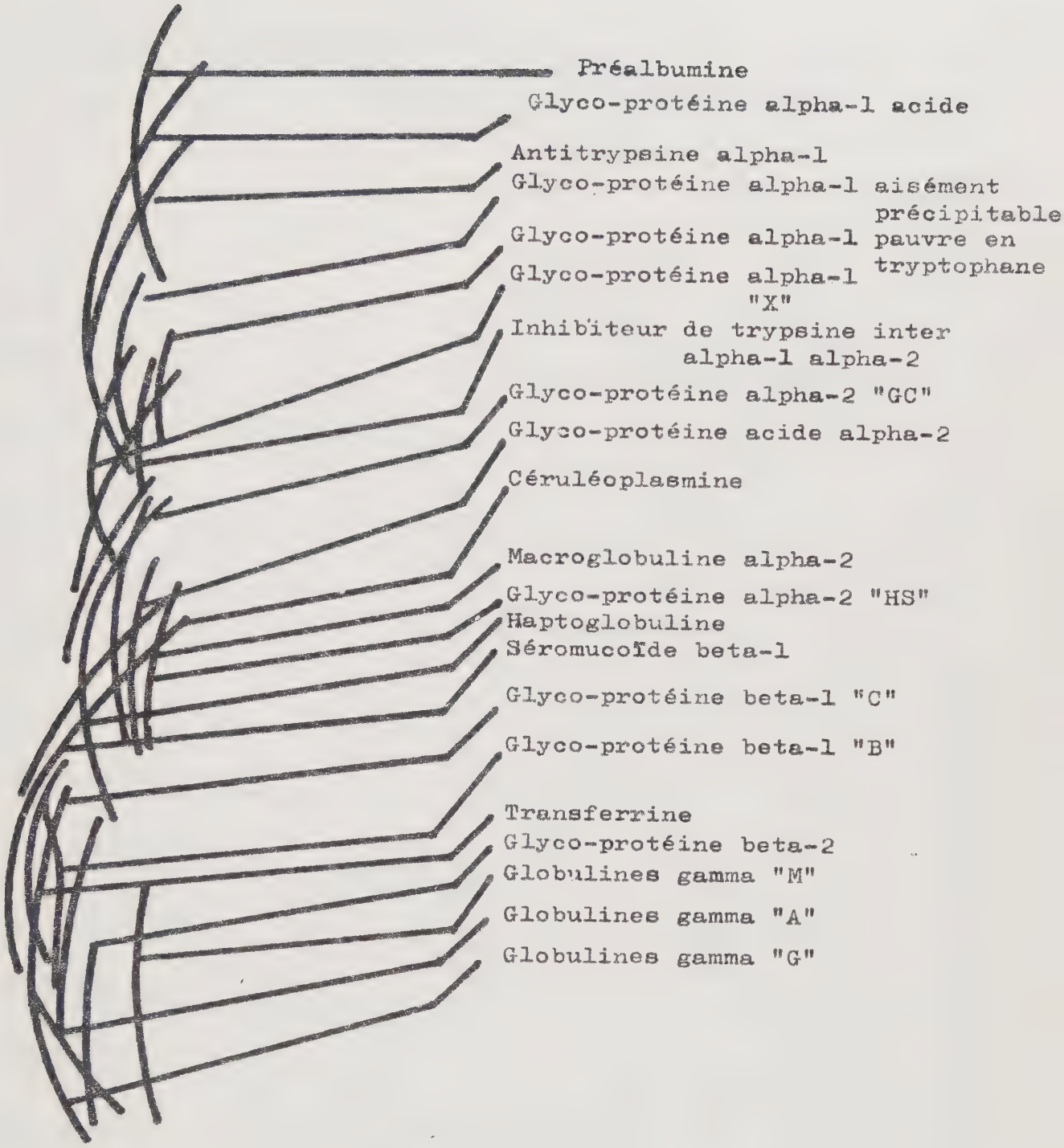


Figure n° 3

DIAGRAMME IMMUNO-ELECTROPHORETIQUE

DES GLYCO-PROTEINES DU SERUM HUMAIN

PREALBUMINE

ALBUMINE

α GLYCOPROTEINE ACIDE OROSOMUCOIDE

α LIPOPROTEINE

α ANTITRYPSINE

Gα GLOBULINE (1-1)

α GLYCOPROTEINE

CERULOPLASMINE

HAPTOGLOBINE (1-1)

α MACROGLOBULINE

β LIPOPROTEINE

β A GLOBULINE

HEMOPEXINE

TRANSFERRINE

β GLOBULINE

A GLOBULINE

M GLOBULINE

G GLOBULINE

• seulement dans le serum frais

D - CARACTERISATION IMMUNO-CHIMIQUE

Les glycoprotéines sériques, comme toutes les protéines sériques, possèdent une spécificité antigènique fondée sur des éléments caractéristiques de leur structure.

L'injection de ces glycoprotéines humaines (antigène) à un animal, lapin par exemple, provoquera la synthèse par cet animal, d'anticorps spécifiques ; le sérum de cét animal est un immun-sérum ; il sera monospécifique si l'immunisation a été faite avec une glycoprotéine pure.

Cet immun-sérum permet la caractérisation de la glycoprotéine correspondante, par formation d'un précipité spécifique antigène-anticorps. Cette réaction offre de plus, l'avantage d'être sensible.

On peut utiliser la méthode d'Ouchterlony ou l'immuno-électrophorèse, selon Grabar, où la précipitation dans le gel, est précédée d'une électrophorèse du sérum à analyser.

PREALBUMINE

ALBUMINE

ALPHA-1 GLYCOPROTEINE ACIDE

ALPHA-1 ANTITRYPSINE

ALPHA-2 "GC" GLYCOPROTEINE

CERULEOPLASMINE

ALPHA-2 MACROGLOBULINE

ALPHA-2 "HS" GLYCOPROTEINE

BETA-LIPOPROTEINE

HEMOPEXINE

BETA-1 A GLOBULINE

BETA-1 E GLOBULINE

TRANSFERRINE

BETA-2 GLYCOPROTEINE

IMMUNOGLOBULINES G,A,M,D.

C REACTIVE PROTEINE

PROTHROMBINE

FIBRINOGENE

FRACTION C'3 DU COMPLEMENT

PROTEINES SERIQUES POUR LESQUELLES ON POSSEDE DES ANTI-CORPS SPECIFIQUES.

E - LES METHODES DE DOSAGE

Lors des premiers dosages effectués entre 1965 et 1968 à l'hôpital Hérold, deux méthodes furent utilisées : l'électrophorèse du sérum à pH 3,9 et le dosage des hexoses combinés des glycoprotéines sériques après leur isolement par double précipitation.

Les dosages pratiqués en 1971-72 utilisent la mesure directe de précipitation d'orosomucoïde au contact des anticorps anti-orosomucoïde spécifiques.

I - DOSAGE CHIMIQUE DES GLYCOPROTEINES SERIQUES

Ces techniques permettent de doser les glycoprotéines en évaluant la teneur en l'un de leurs constituants communs. Malheureusement, la composition chimique des glycoprotéines est très variable d'une glycoprotéine à l'autre. Aucune de ces techniques n'est valable si on les applique à un mélange trop hétérogène. Les résultats reflètent les variations des glycoprotéines les plus importantes pondéralement et surtout celles des composants les plus riches en l'élément dosé. On peut doser, soit des constituants de la copule peptidique, soit des éléments de la copule polysaccharidique.

1° - Dosage de la copule peptidique :

- le dosage de l'azote total (Kjeldahl) donne des résultats précis mais les manipulations sont fastidieuses et rendent l'application à la clinique inexploitable. De plus, la teneur en azote des glycoprotéines est très variable ; elle reflète à la fois l'importance relative de la copule peptidique et la teneur en hexosamine.
- le dosage de la tyrosine (méthode de Lowry) est plus spécifique de la copule peptidique. Malheureusement, cette technique très sensible n'est pas toujours très fidèle.

Pour doser les glycoprotéines sériques, ces techniques ne peuvent pas s'appliquer au sérum total. En effet, elles déterminent également le taux des holoprotéines qui sont majoritaires dans le sérum. Il faudra donc réaliser dans un premier temps, une véritable purification du milieu par précipitation par l'acide phytique 0,2 N, par exemple.

2° Dosage de la copule polysaccharidique :

Ce dosage est plus intéressant car plus spécifique des glycoprotéines, à l'exclusion des autres protéines sériques.

- le dosage des hexosamines (méthode d'Elson-Morgan) met surtout en valeur les variations de la glycoprotéine alpha-1 (orosomucoïde) qui contient 14 % d'hexosamines. La plupart des autres protéines ont une teneur comprise entre 2 et 6 % d'hexosamines et n'interviennent que pour une faible part dans les variations enregistrées.
- le dosage des hexoses réducteurs (Tilmans et Philippi) ne peut être utilisé qu'après un fractionnement par double défécation afin d'éliminer le glucose sérique. Les variations enregistrées avec cette technique sont assez comparables à celles données par le dosage des hexosamines.
- le dosage des acides sialiques (méthode de Warren) après hydrolyse sulfurique douce, est plus délicat à réaliser. Encore une fois, les variations de l'orosomucoïde sont les mieux mises en évidence, car elle contient 12 % d'acides sialiques.
- le dosage du fucose ne présente que peu d'intérêt pour quantifier les glycoprotéines car il est peu précis.

II - DOSAGE CHIMIQUE DE L'ALPHA-1 GLYCOPROTEINE ACIDE

1° - Dosage des hexoses combinés aux glycoprotéines :

a) Principe :

- isolement des glycoprotéines sériques par précipitation phosphotungstique du surnageant phytique du sérum.
- transformation des hexoses en dérivés furfuraliques par l'acide sulfurique et coloration par le réactif à l'Orcinol.

b) Technique :

- précipitation phytique : 1 ml de sérum dans 14 ml d'eau distillée est mis en présence de 10 ml de réactif phytique (0,1 N pH2,10) ; il se produit un précipité qui contient toutes les protéines sériques à l'exception des glycoprotéines acido-solubles ; après centrifugation, le surnageant est recueilli.
- précipitation phospho-tungstique : le surnageant phytique (15 ml) est précipité par le réactif phospho-tungstique (7,2 ml de la solution acide phospho-tungstique 25 g - acide chlorhydrique 2N 500 ml).
- ce nouveau précipité est lavé une fois par l'acétone, deux fois par l'éther et redissous dans 0,5 ml de soude normale.

c) Dosage :

- le dosage va apprécier le taux des hexoses totaux contenu dans les glycoprotéines.
- on évaluera donc la quantité de dérivés furfuraliques obtenus par l'action de l'acide sulfurique et colorés par l'Orcinol sur la dernière solution sodique en la comparant à une solution-étalon contenant une quantité connue de galactose et de mannose.
- le calcul, après lecture spectrophotométrique, tiendra compte du pourcentage moyen des hexoses contenus dans les diverses glycoprotéines.
- les valeurs normales du sérum humain sont de 1 à 2 mg/ml exprimés en hexoses combinés.

d) Critique de la méthode :

- bien évidemment, la spécificité est très mauvaise puisqu'on dose, par cette technique, toutes les glycoprotéines acido-solubles.
- toutes les manipulations entraînent, lors des précipitations et des lavages, non seulement des pertes importantes, mais aussi des erreurs par excès ou par défaut dues à des artéfacts.
- le calcul fait appel à un taux moyen de glucides contenus dans les glycoprotéines alors que ce taux est extrêmement variable dans les quelques 40 fractions que l'on connaît.
- enfin, toutes les glycoprotéines ne s'élèvent ou ne s'abaissent pas en même temps ; ainsi, le pourcentage de glucides peut varier énormément si la protéine qui s'élève ou s'abaisse contient plus ou moins de glucides.

- tous ces inconvénients font que cette méthode de dosage a été complètement abandonnée au profit de l'immuno-chimie.

2° - Electrophorèse à pH 3,9 qui met en évidence l'alpha-1 glycoprotéine acide de façon spécifique.

a) Principe : à pH 3,9, l'orosomucoïde, très acide, migre seule vers l'anode.

b) Technique :

- les bandes d'électrophorèse sont mises en contact avec le tampon (acide acétique et pyridine) pendant 15 minutes.
- après séchage, on ensemence le milieu des bandes avec une micropipette quatre fois de suite en laissant sécher entre chaque application (20 à 30 microlitres).
- l'électrophorèse dure trois heures à 180 volts ; après la migration, on met les bandes dans l'éthanol et on colore par le réactif de Schiff après oxydation périodique.
- la coloration proprement dite fait appel à plusieurs opérations : solution oxydante pendant trois minutes,
  lavage à l'eau distillée,
  réactif de Schiff pendant quinze minutes,
  nouveau lavage à l'eau distillée,
  trois bains dans une solution colorante.

Cette coloration révèle la copule osidique des glycoprotéines.

- les deux fractions sont découpées à la lame de rasoir et éluées dans 5 ml de solution acétique à 90 %. Elles correspondent à l'orosomucoïde seule, d'une part, aux autres glycoprotéines sériques, d'autre part.

c) Dosage :

- la lecture des résultats se fait à l'aide d'un spectrophotomètre à 550 /nanomètres.
- les valeurs normales sont comprises entre 15 et 18 % des glycoprotéines totales

d) Critique de la méthode :

- les résultats sont exprimés en fonction du pourcentage des glycoprotéines totales ; or, ce total varie suivant les situations pathologiques ; dans le cas où l'orosomucoïde s'élève relativement plus que les autres glycoprotéines, le rapport augmen-

tera ; par contre, si orosomucoïde et glycoprotéines totales s'élèvent ou s'abaissent dans les mêmes proportions, le rapport demeurera inchangé.

- pour remédier à cet inconvénient, on a tenté d'étalonner la réaction par rapport au taux d'acides sialiques ou grâce à de l'orosomucoïde purifiée disponible dans le commerce ; ces efforts n'ont pas encore abouti puisque les résultats obtenus ainsi restent très infidèles.

Méthode non spécifique à l'Orcinol, méthode spécifique par l'électrophorèse à pH 3,9 ne permettent donc pas d'obtenir de bons résultats de dosages ; la parole reste donc aux techniques de spécificité immunologique.

III - DOSAGE IMMUNOLOGIQUE DES GLYCOPROTEINES

Seuls les dosages immunologiques spécifiques peuvent amener le biologiste à la résolution des problèmes que nous venons d'évoquer. Si la protéine sérique à doser représente l'antigène, elle pourra être dosée spécifiquement à condition de disposer de son anticorps spécifique. Les progrès réalisés dans l'immunochimie ont permis d'obtenir des immunsérums spécifiques contre un nombre important de protéines (une vingtaine environ).

Deux procédés sont employés :

- la technique de Mancini basée sur la diffusion de l'antigène dans un gel renfermant l'anticorps.
- la technique de Laurell basée sur la migration électrophorétique de l'antigène dans un gel renfermant l'anticorps.

Ces deux techniques permettent d'identifier et de doser un bon nombre de constituants sériques dont nous donnons la liste à titre indicatif ; nous avons, pour notre part, utilisé la méthode de Mancini pour réaliser nos dosages.

Remarquons que l'immuno-électrophorèse classique ne permettait qu'une évaluation semi-quantitative et, pour certains arcs mineurs, elle devient trop délicate à interpréter.

1° - La technique de Mancini :

En 1965, Mancini, Carbonara et Heremans ont mis au point l'immunodiffusion radiale. C'est une méthode de dosage

immunologique dans laquelle l'anticorps monospécifique est incorporé à l'agarose et réagit avec l'antigène qui diffuse radialement à partir d'un godet creusé dans le gel.

La surface de zone formée est :

- inversement proportionnelle à la concentration d'anticorps dans le gel.
- directement proportionnelle à la quantité d'antigène présente dans la solution déposée dans le réservoir.

a) Technique :

- on peut utiliser des plaques prêtes à l'emploi du commerce "Behring-Werke Partigen" - "Hyland Immunoplate").
- il est possible également de préparer soi-même les plaques :
  - on additionne le gel d'agarose de l'immunsérum spécifique.
  - on pratique des trous à l'emporte-pièce.
  - dans chaque trou, on dépose 3 microlitres des solutions à étudier.
  - les étalons sont appliqués à quatre dilutions différentes.
- les plaques sont disposées en chambre humide, rigoureusement horizontale.
- on laisse diffuser pendant 48 heures à la température du laboratoire.

b) Dosage : Les anneaux de précipitation peuvent être mesurés :

- directement avec une règlette spéciale ("Behring-Werke").
- sous un éclairage radiant à l'aide d'un oculaire micrométrique ("Hyland").
- après agrandissement photographique.
- après fixation à l'acide tannique à 1 %.
- après coloration au bleu de Coomassie.

c) Résultats : la surface des zones de précipitation est proportionnelle à la quantité d'antigène.

Sur une échelle semi-logarithmique, on obtiendra une droite en portant sur l'échelle :

- décimale, le diamètre des anneaux de précipitation.
- logarithmique, les concentrations en antigène.

La lecture du diamètre de précipitation permet donc de connaître la concentration de la protéine dans le sérum étudié.

La valeur moyenne de l'orosomucoïde sérique est de 90 mg pour 100 ml.

d) Causes d'erreur à éviter : la manipulation peut présenter deux difficultés d'interprétation :

- les cercles de précipitation sont flous.
- les cercles de précipitation sont irréguliers.

Le phénomène des cercles flous est lié à la dégradation des anticorps contenus dans le gel ; les plaques du commerce portent une date de péremption ; les plaques préparées au laboratoire doivent être utilisées dans les huit jours.

Le phénomène de cercles irréguliers provient d'erreurs de manipulation à divers stades :

- à l'ensemencement, trous trop proches, table non horizontale.
- pendant la diffusion, plaques non horizontales dans une enceinte non saturée d'humidité.

En tout cas, il semble que cette méthode donne les résultats tout à fait satisfaisants pour le moment ; la seule critique est que l'on doive attendre au moins deux jours, la diffusion.

2° La technique de Laurell

a) Principe : la méthode de Laurell, appelée également électro-immunodiffusion combine deux phénomènes :

- migration électrophorètique d'un mélange de protéines à pH 8,6 dans un gel d'agarose contenant un immunsérum monospécifique.
- formation d'un complexe insoluble entre la protéine et l'anticorps correspondant entraînant l'épuisement progressif de la prise d'essai.
- se forme ainsi un pic de précipitation dont la hauteur est proportionnelle à la quantité de protéines déposée.

b) Technique :

- préparation de la plaque de gel.
  - on coule le gel d'agarose contenant l'anticorps sur une plaque de verre.
  - on pratique à l'emporte-pièce 12 à 15 trous.
  - on place la plaque dans la cuve d'électrophorèse

en assurant avec du papier Whatman le contact avec le tampon à pH 8,6 (barbital sodique-fi/ 0,01).

- on dépose sous faible voltage 5 microlitres d'échantillon dans chaque trou.

- migration :
  - à haut voltage (8-10 volts/cm) pendant deux heures.
  - à bas voltage (1-3 volts/cm) pendant dix heures.

- révélation :
  - séchage du gel.
  - lavage dans une solution de chlorure de sodium 0,15 M puis dans l'eau distillée.
  - séchage à l'étuve.
  - coloration dans le bleu de Coomassie.
  - décoloration et séchage à l'étuve.

c) Résultats : la concentration de l'antigène est déterminée en mesurant la hauteur du pic de précipitation (on met la plaque sur une feuille de papier millimètrée et on mesure la distance entre le centre du trou d'application et l'extrêmité du pic de précipitation) comparativement à une gamme réalisée simultanément.

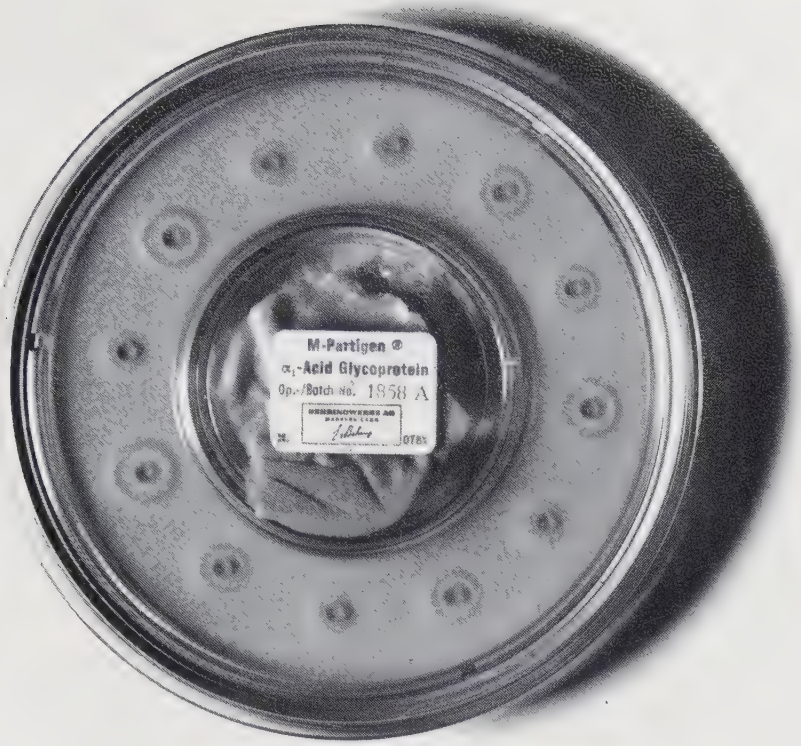
Les chiffres trouvés sont comparables à ceux obtenus par la méthode de Mancini.

d) Causes d'erreur : la hauteur du pic dépend non seulement de la quantité de protéine mais aussi d'un certain nombre de facteurs qu'il faut maintenir constants :

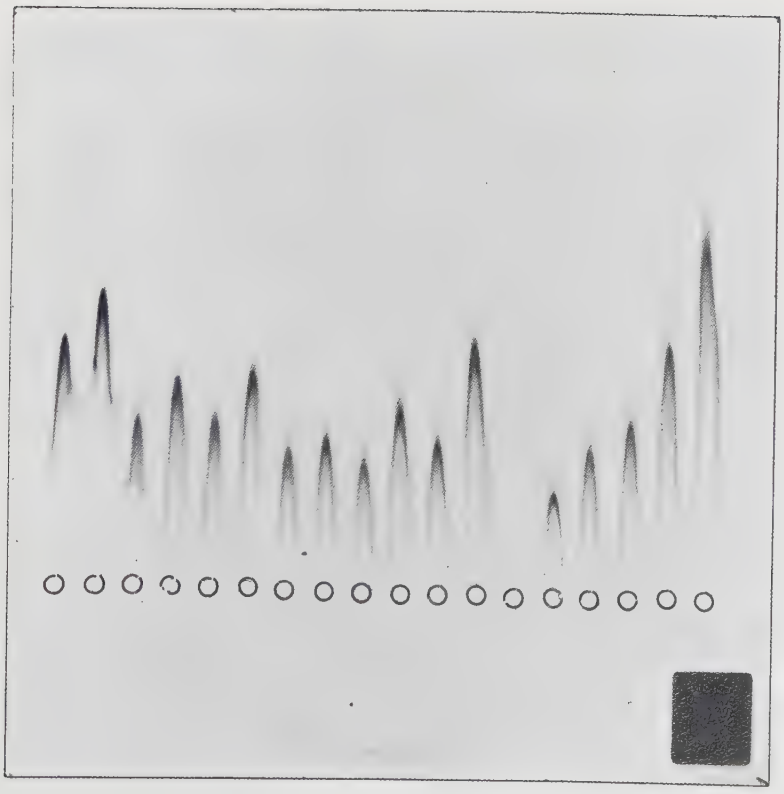
- concentration en anticorps inclus dans le gel.
- intensité du champ électrique.
- force ionique et pH du tampon.
- qualité du gel.
- mobilité de la protéine.
- durée de l'électrophorèse.

Cette technique est très sensible puisqu'elle permet de doser des quantités de protéines de l'ordre du dixième de microgramme ; elle est cependant beaucoup moins tolérante aux petites erreurs techniques que la méthode de Mancini. Elle offre pourtant l'avantage de donner des résultats en quelques heures grâce à l'intervention du champ électrique ; enfin et surtout,

elle est beaucoup plus précise que la méthode de Mancini. La nécessité d'une mise au point longue explique qu'elle sera réservée à quelques cas précis.



Méthode de MANCINI



Méthode de LAURELL

CHAPITRE SECOND

A - ELEMENTS DU METABOLISME

I - ORIGINE DES GLYCOPROTEINES

1° L'origine hépatique.

2° La dépolymérisation des mucopolysaccharides.

3° La prolifération tissulaire.

II - BIOSYNTHESE

III - CATABOLISME

B - ELEMENTS DE PHYSIO-PATHOLOGIE

A - ELEMENTS DU METABOLISME

I 6 ORIGINE DES GLYCOPROTEINES

Trois voies principales peuvent être distinguées :

- origine hépatique,
- dépolymèrisation des mucopolysaccharides,
- prolifération tissulaire à l'occasion d'une inflammation.

1° L'origine hépatique

Le rôle synthétisant des cellules hépatiques est depuis longtemps soupçonné. En 1949, Werner montra une élévation des glycoprotéines sériques après une saignée abondante chez un lapin ; cette élévation était prévenue par des lésions expérimentales préalables du parenchyse hépatique de l'animal. Ce fait a depuis été confirmé par des expérimentations utilisant des perfusions de foie à l'aide d'éléments marqués ; en particulier, l'alpha-1 glycoprotéine acide et l'haptoglobine, sont, en majeure partie, synthètisés dans le foie.

2° La dépolymèrisation des mucopolysaccharides

Après la constatation que certaines glycoprotéines acido-solubles pouvaient être fabriquées en dehors du foie (dosages chez des chiens hépatectomisés), on a pensé que des glycoprotéines sériques pourraient provenir de la dépolymèrisation des mucopolysaccharides de la substance fondamentale du tissu conjonctif. Au départ de cette hypothèse, une observation de Catchpole montrait que l'on pouvait extraire du tissu conjonctif une fraction riche en glucides, de propriétés analogues à celles des glycoprotéines acido-solubles. Cette relation entre les protéines du tissu conjonctif et celles du sérum est également étayée par l'injection de parathormone chez le rat. L'injection de cette hormone provoque la dissolution de la substance de l'os et du cartilage ; simultanément, apparaît dans le sang une hyperglycoprotéinémie ; le même phénomène a été constaté chez l'homme.

Cette hypothèse a aujourd'hui contre elle beaucoup de chercheurs. Des arguments chimiques sont, semble-t-il, tout à fait en défaveur de ce mécanisme ; en effet, la substance fondamentale du tissu conjonctif est formée principalement de mucopolysaccharides acides qui contiennent, par définition,

des acides uroniques ; par contre, les glycoprotéines sériques n'en renferment jamais. De plus, Musil a pu montrer que l'augmentation des glycoprotéines sériques n'a pas lieu pendant la phase de destruction cellulaire mais bien après, lors de la phase de prolifération.

Toutefois, le liquide pleural, le liquide synovial, les liquides de phlyctènes, les tissus de l'aorte, du cartilage, les blessures en voie de cicatrisation sont riches en glycoprotéines acido-solubles qui peuvent être libérées à partir de ces sources.

3° La prolifération tissulaire

D'après Musil, les glycoprotéines seraient le reflet d'une prolifération cellulaire et non d'une destruction ; Shetlar et coll. ont noté un pic dans le taux des glycoprotéines sériques après la production d'inflammations stériles ; ce pic coïncide avec le commencement d'une prolifération tissulaire.

II - BIOSYNTHESE HEPATIQUE

Dans un premier temps, le squelette polypeptidique est synthètisé exactement de la même manière que d'autres protéines ; les chaînes polyosidiques viennent s'y fixer sur des sites privilégiés du peptide. Les localisations sont spécifiques et reconnues par l'enzyme mais les possibilités de sites fixant sont en général plus nombreuses que les chaînes osidiques à accrocher ; dans ce cas, les fixations se font un peu au hasard et la position des polysaccharides peut modifier la configuration stérique de la molécule. Ces diverses possibilités de liaison expliquent l'hétérogénéité moléculaire trouvée en électrophorèse pour une même glycoprotéine, bien que les propriétés chimiques soient exactement superposables. Plutôt que de parler de formes allèlomorphes (ce qui sous-entend une différence d'origine génétique), mieux vaudrait adopter le terme d'hétéromorphe qui traduit mieux et sans ambiguité cette caractéristique particulière.

L'anabolisme de la copule polysaccharidique est semblable au mécanisme biochimique des glucides ; le sucre

est activé grâce à l'ATP pour donner un ADP-sucre qui peut être transféré sur un accepteur constituant la liaison osidique ; l'enchaînement se fera grâce à des enzymes spécifiques qui relieront entre elles les différentes chaînes.

III - CATABOLISME

On est bien loin d'avoir élucidé les mécanismes qui concourent à la destruction des glycoprotéines. Comme toutes les protéines, elles sont problablement sécrètées par les cellules intestinales et digérées telles les protéines alimentaires. Mais ce problème ne rassemble pas tous les mécanismes : le rein joue également un rôle ; le tubule hydrolyse les glycoprotéines filtrées par le glomérule ; une partie est peut-être réabsorbée tandis que le reste est éliminé par les urines. La cellule hépatique doit également détruire les glycoprotéines, particulièrement celles qui sont dénaturées.

Enfin, il se produit indiscutablement un catabolisme intra-cellulaire avec production d'une molécule complexe de nucléotide et d'amino-acide. Ceci expliquerait que ces amino-acides déjà activés soient utilisés préférentiellement pour la biosynthèse de nouvelles molécules réalisant un cycle intra-cellulaire.

On a pu envisager trois types de catabolisme :

1° Du type fibrinogène par simple pinocytose ou par passage entéral réalisant une épuration à peu près constante et proportionnelle à la concentration plasmatique.

2° Du type transferrine ou haptoglobine pour lequel le tissu responsable réalise un travail assez constant lié avec un autre métabolisme.

3° Du type immunoglobuline qui joue un rôle dans la régulation du taux sérique. La glycoprotéine serait protégée dans la cellule grâce à un récepteur ; ainsi serait possible la remise en circulation de certaines glycoprotéines.

B - E L E M E N T S DE P H Y S I O-P A T H O L O G I E

On peut expliquer l'augmentation des glycoprotéines sériques synthètisées par le foie ; l'alpha-1 glycoprotéine et l'haptoglobine ont une courte demi-vie (5 et 4 jours) ; cette demi-vie n'est pas plus longue chez les malades que chez les sujets en bonne santé. On peut donc penser que l'augmentation de leur taux reflète une augmentation de la production. Winzler a prouvé l'augmentation des synthèses lors de divers syndromes inflammatoires. Cette augmentation n'est pas due à une accélération des processus de synthèse mais elle résulte de la mise en oeuvre de la totalité des cellules épithéliales hépatiques. Ce phénomène a pu être visualisé en immuno-fluorescence pour l'haptoglobine.

De nombreuses observations rapportent des élèvations significatives du taux des glycoprotéines ; on a pu constater cette élèvation dans des maladies très diverses dont le seul point commun était la symptomatologie inflammatoire. On a pu confirmer aussi le rôle de synthèse du foie en étudiant les atteintes inflammatoires hépatiques et en constatant cette fois la baisse du taux sérique. Nous-mêmes, dans une très courte étude, avons pu constater que le taux de l'orosomucoïde s'abaissait significativement dans quelques cas d'hépatites virales.

Mais si les taux abaissés s'expliquent facilement par un déficit de synthèse (atteintes hépatiques) ou un excès d'élimination (atteintes rénales), l'élèvation des glycoprotéines n'est pas encore expliquée, pas plus que l'utilité d'une telle élévation. La seule réponse que l'on peut faire est que l'élévation des glycoprotéines constitue une réponse humorale à l'inflammation. A notre connaissance, il n'y a pas encore eu d'expérimentations animales visant à préciser le rôle physiologique des glycoprotéines.

En fait, l'étude de ces protéines particulières est fort peu avancée ; l'ignorance de leur rôle physiologique exact est un frein dans la compréhension de leurs variations ; cependant, la répétition constante de leur élévation dans les syndromes inflammatoires et en particulier dans le rhumatisme articulaire aigü, nous a semblé suffisante pour une étude clinique.

C H A P I T R E T R O I S I E M E

A - G E N E R A L I T E S

B - N O T R E E X P E R I E N C E D E 1 9 6 5 - 1 9 6 8

I - LES DOSAGES STATIQUES

II - LES DOSAGES DYNAMIQUES

A - GENERALITES

Les diverses données rapportées dans la littérature par les auteurs ayant étudié les variations physiologiques et pathologiques des glycoprotéines sériques, en particulier au cours des affections rhumatismales, confirment toutes, depuis une dizaine d'années, l'intérêt de ces études pour juger de l'importance et de la durée d'un syndrome inflammatoire.

Diverses études ont été effectuées par beaucoup d'auteurs sur les mêmes sérums qui les ont conduits à comparer les résultats exprimés, soit en hexoses liés aux protéines, soit en acide sialique, soit en glucosamine, soit en fraction perchlorosoluble, soit en orosomucoïde (ph 3,9).

Les variations d'ensemble sont, en gros, parallèles, mais il a semblé que l'orosomucoïde ou glycoprotéine alpha-1, ou fraction de Winzler, montrait les variations les plus intéressantes.

Nous ne parlerons pas du test au Cétavlon qui, certes, indique fidèlement la valeur globale du taux des séromucoïdes, mais il n'est pas un moyen de recherche précis.

Les glycoprotéines sériques augmentent nettement au cours des divers syndromes inflammatoires, mais c'est au cours du rhumatisme articulaire aigü et, à un moindre degré, au cours des rhumatismes inflammatoires subaigüs ou chroniques et des collagènoses que des études systématiques ont été entreppises. Il semble bien, à la lumière des publications les plus récentes, que l'intérêt de leur étude soit considérable comme apport au diagnostic et comme épreuve de surveillance de l'évolution d'un syndrome inflammatoire. Leur spécificité, peut-on dire, est supérieure à celle de la vitesse de sédimentation et surtout, de la C- réactive protéine.

Au cours du rhumatisme articulaire aigü, l'étude des hexoses liés aux protéines des séromucoïdes phytosolubles ou mieux de l'orosomucoïde par l'électrophorèse à pH 3,9 et l'immuno-chimie constitue probablement le test le plus fidèle du processus inflammatoire. Leur augmentation

paraît constante, de façon plus régulière que celle de la vitesse de sédimentation ; elle paraît même plus fidèle que l'ascension des antistreptolysines "O".

Les glycoprotéines atteignent des taux de 2 à 3 g/l.

L'orosomucoïde est retrouvée à des taux de 1,50, 2, voire 3 ou 4 g/l.

Cette ascension paraît plus constante que celle obtenue par le dosage des hexosamines qui ne s'élèvent que dans 4/5 des cas environ et augmentent en règle, progressivement.

C'est au cours de la surveillance des syndromes inflammatoires que l'intérêt du dosage des glycoprotéines sériques est le plus grand, car le retour à la normale se fait dans les 15 à 20 jours qui suivent le début de la maladie, légèrement après la normalisation de la vitesse de sédimentation. On peut penser que ce fait traduit la persistance du processus inflammatoire, alors que les examens biologiques de routine montraient un retour à des chiffres normaux ; ainsi pourrait-on expliquer la possibilité de rechute si le traitement a été arrêté un peu trop précocément.

Enfin, en observant 28 cas de polyarthrites chroniques évolutives, Nettelbladt et Sunblad ont étudié l'évolution du taux de l'orosomucoïde, de l'haptoglobine, de l'acide sialique total, des glycoprotéines acido-solubles et de la C-Réactive protéine. Ils ont constaté que les glycoprotéines et, en particulier, l'orosomucoïde, ont donné le plus haut degré de corrélation avec l'activité chronique.

B - NOTRE EXPERIENCE DE 1965-1968

L'étude entreprise entre 1965 et 1968, à l'hôpital Hérold, à Paris, dans les services du Pr Herrault et du Dr Agneray avait pour but d'apprécier deux éléments principaux :

- le taux normal des glycoprotéines acido-solubles étudié dans le sérum de 250 témoins normaux à l'aide de deux techniques : dosage des séromucoïdes isolés par double défécation phytique et phosphotungstique et détermination de leur taux d'hexoses combinés,

électrophorèse à pH 3,9.

- l'intérêt du dosage de l'orosomucoïde, dans certains cas particuliers (phase inaugurale du rhumatisme articulaire aigü, autres infections dues au streptocoque hémolytique, collagènoses) afin d'en tirer éventuellement un argument biologique solide en faveur des diagnostics envisagés.

Nous ne nous attarderons pas sur les résultats concernant les sujets normaux dont les valeurs sont superposables à celles obtenues dans les dosages spécifiques de l'orosomucoïde qui sont exposés au chapitre 4.

Bien que cette étude n'ait pas été poursuivie après 1968, il nous a semblé cependant profitable de mentionner ici les principaux résultats obtenus à partir de 150 sérums prélevés chez divers malades :

- infections ORL et angines	38
- glomérulonéphrites hématuriques	46
- rhumatisme articulaire aigü	21
- pneumopathie virale	11
- purpura rhumatoïde	16
- collagènoses et rhumatismes chroniques	7
- maladie périodique	4

I - LES DOSAGES STATIQUES

En effet, ces dosages sont statiques dans la mesure où ils n'ont été pratiqué qu'une seule fois pour chaque malade, permettent de se rendre compte du taux d'alpha-1 glycoprotéine acide à la phase aigüe de ces maladies.

En voici les résultats, ils confirment en tous points les travaux des dix dernières années en ce qui concerne le rhumatisme articulaire aigü et les rhumatismes chroniques inflammatoires.

1° Dans toute inflammation aigüe, l'orosomucoïde se retrouve à un taux élevé supérieur à 15 % des glycoprotéines totales (pH 3,9).

- 100 % des cas dans les affections ORL,
- 100 % des cas de pneumopathies virales,
- 100 % des cas de rhumatismes articulaires aigüs au début.

2° Dans les glomérulopathies hématuriques post-infectieuses à début aigü :

- 70 % des cas ont un taux supérieur à 15 % des glycoprotéines totales.

L'étude plus complète aurait peut-être montré, dans les 30 % où les glycoprotéines étaient normales, un bon nombre de cas dans lesquels la nature infectieuses de l'atteinte rénale n'a pu être prouvée : hématurie familiale, syndrome néphro-anémique, syndrome néphrotique impur, etc...

3° Dans sept cas de collagènoses et de rhumatismes chroniques, cette étude a montré successivement :

a) deux cas de dermatomyosites confirmés ont donné un taux extrêmement élevé pendant une phase aigüe de la maladie alors que le retour à la normale a pu être observé en phase de rémission.

b) dans cinq cas de rhumatismes chroniques regroupant une maladie de Still et quatre polyarthrites ankylosantes et déformantes en période aigüe, les taux ont toujours été très élevés s'étageant entre 17 % (1 cas), 20 % (1 cas), 20-30 % (3 cas).

4° L'étude des variations sériques au cours du purpura rhumatoïde a amené également la constatation d'un taux élevé de glycoprotéines acido-solubles. Seize malades ont été étudiés parmi lesquels 88 % possédaient un taux supérieur à 15 %. Dans les 13 cas possédant un taux élevé, le minimum a été de 18 %, le maximum de 27 %.

5° Voici rapidement exposés les résultats concernant 21 cas de rhumatisme articulaire aigü étudiés en 1967-68 :

a) dans les rhumatismes simples, sans atteinte cardiaque, traités par le thérapeutique habituelle, le taux d'orosomucoïde est constamment élevé dans le début de la maladie.

b) dans les rhumatismes avec atteinte cardiaque ou autre atteinte viscérale (péricardite, pleurésie), le taux semble significativement plus élevé au départ.

c) parmi quelques cas de rhumatismes articulaires anciens explorés, deux cas se présentent :

- le plus fréquemment, le taux d'orosomucoïde est normal

alors qu'il n'existe aucun signe clinique de reprise évolutive.
- rarement, le taux est anormalement élevé mais il est impossible sur ce seul examen isolé d'incriminer une rechute ou une infection passagère intercurrente.
d) enfin, chez certains malades où les preuves du rhumatisme articulaire aigü n'ont pas été faite, si l'on soupçonnait une étiologie streptococcique sur des signes cliniques à type d'arthralgies, l'étude de l'orosomucoïde n'a pu apporter que des arguments de présomption en faveur ou en défaveur du diagnostic envisagé.

II - LES DOSAGES DYNAMIQUES

Dans quelques cas privilègiés, il a été possible de suivre dans une courte étude le taux de l'orosomucoïde au long de l'évolution d'une maladie (en particulier dans le rhumatisme articulaire aigü) ; il se confirme que ce dosage répété est un témoin fort valable non seulement de la gravité, mais surtout de l'évolution du syndrome inflammatoire ; en particulier :
- l'augmentation de l'orosomucoïde paraît absolument constante et plus régulière que celle de la vitesse de sédimentation.
- l'étude conjointe de l'élèvation des antistreptolysines donne l'avantage au dosage des glycoprotéines dans la mesure où ces dernières s'élèvent plus régulièrement de même qu'elles s'abaissent plus tardivement.

C'est au cours de la surveillance de l'évolution du syndrome inflammatoire que l'intérêt des dosages répétés est le plus grand. En effet, le retour à la normale semble être précédé par celui de la vitesse de sédimentation ; ainsi serait peut-être expliquée la possibilité de rechutes à l'arrêt du traitement du fait de l'insuffisante précision des examens biologiques.

Cette première étude fort incomplète a cependant le mérite de préciser chez l'enfant, l'évolution pathologique du taux sérique des glycoprotéines acido-solubles en faisant entrevoir une utilisation possible sur le plan de la clinique ; en effet, on pouvait admettre à partir de ce travail, que

l'élèvation des glycoprotéines sériques était un témoin fort valable de l'évolution d'un syndrome inflammatoire relativement important. C'est pourquoi nous avons décidé de reprendre de façon plus systématique sur un petit nombre de cas, l'étude de l'orosomucoïde avec l'aide de techniques de laboratoire (immuno-chimiques) qui facilitaient grandement la précision des résultats.

CHAPITRE QUATRIEME

ETUDE DU TAUX NORMAL DE L'OROSO-MUCOIDE

A - GENERALITES

B - DOSAGE CHEZ DES ENFANTS ENTRE LA NAISSANCE ET UN AN

I - LES PREMATURES ET LES RETARDS DE CROISSANCE INTRA-UTERINE

II - LES NOURRISSONS ENTRE LA NAISSANCE ET UN AN

C - DOSAGE CHEZ DES ENFANTS ENTRE UN AN ET QUINZE ANS

A - G E N E R A L I T E S

A notre connaissance, l'étude du taux normal de l'orosomucoïde chez l'enfant n'a pas encore été fait ; cependant, par la force des choses, nous avons été amenés à faire cette étude afin de connaître les limites admises de la normalité chez les enfants bien portants et d'en déduire les variations pathologiques. Dans les maladies qui nous intéressaient, en particulier dans le rhumatisme articulaire aigü, nous avons choisi alors un lot d'enfants témoins parmi ceux qui étaient hospitalisés pour des maladies inflammatoires ou pour des bilans ; dans tous les cas, nous n'avons retenu que les enfants qui avaient un bilan inflammatoire tout à fait normal (vitesse de sédimentation et antistreptolysines non augmentées).

De plus, la présence dans le service, d'une unité de prématurés nous a suggéré l'idée d'effectuer quelques dosages chez les enfants nés avant terme ou bien nés au terme avec un petit poids ; naturellement, alors, nous avons cherché à établir la courbe de progression de l'orosomucoïde de la naissance jusqu'à la fin de la première année.

B - E N T R E L A N A I S S A N C E E T L A F I N D E L A P R E M I E R E A N N E E

I - Constater des chiffres extrêmement bas chez les enfants nés prématurément n'est pas pour étonner ; en effet, l'immaturité enzymatique de ces enfants est un fait trop connu ; de même, les enfants nés trop petits pour le terme montrent des taux très abaissés, encore plus que chez les prématurés vrais. Quinze nouveaux-nés ont été explorés pour des termes compris entre 34 et 40 semaines ; pour satisfaire au critère de normalité, nous avons, bien sûr, écarté d'office tous les enfants qui avaient, en plus de la prématurité, présenté des épisodes pathologiques, infectieux en particulier ; ceci explique le petit nombre de cas.

Les chiffres les plus bas correspondent aux plus petits termes. Entre 34 et 35 semaines, les chiffres s'étagent

entre 10 et 30 mg ; l'élévation est ensuite progressive pour atteindre des valeurs comprises entre 30 et 50 mg au voisinage du terme théorique.

La fréquence des incidents néo-nataux chez les nourrissons suivis dans le service pour un retard de croissance intro-utérin expliquent que nous n'avons pu accepter que deux enfants pour notre étude ; les taux retrouvés ont été normalement bas, même pour l'âge (inférieur à 35 mg).

II - Chez les nourrissons normaux explorés entre la naissance et la fin de la première année, les taux observés ont montré une progression relativement rapide de l'orosomucoïde ; à la naissance et dans les quatre premières semaines de la vie, les chiffres sont compris entre 40 et 50 mg ; pendant les deux mois suivants, la progression est régulière pour atteindre environ 70 mg à la fin du troisième mois; la pente de la courbe devient alors moins forte et les valeurs retrouvées restent entre 70 mg et 110 mg jusqu'à la fin de la première année.

On peut admettre les valeurs suivantes pour cette période de la vie :

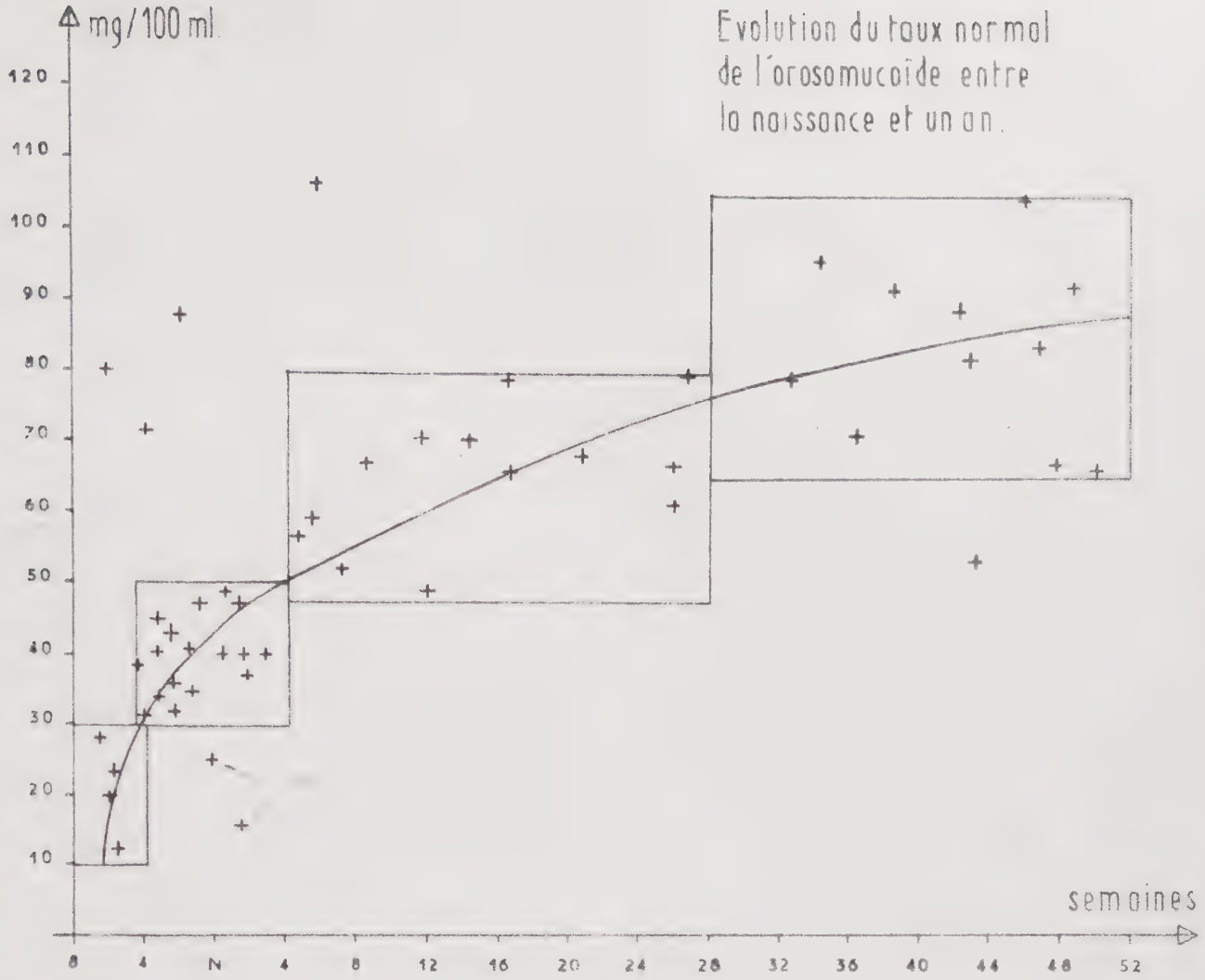
- grands prématurés et retards de croissance intra-utérine : inférieur à 30 mg.
- petits prématurés, nés à terme, premier mois : entre 30 et 50 mg.
- du deuxième au sixième mois inclus : entre 50 et 80 mg.
- au cours du deuxième semestre : entre 65 et 105 mg.

C - A partir de la deuxième année, les chiffres d'orosomucoïde sont comparables à ceux retrouvés chez l'adulte ; pour nous en assurer, nous avons sélectionné, toujours avec les mêmes critères, cent enfants témoins ; encore une fois, les valeurs trouvées n'ont été acceptées qu'à la condition que le bilan inflammatoire soit normal. Les résultats sont rassemblés dans un tableau et un graphique ; on pourra constater que les chiffres moyens sont compris entre 70 et 140 mg (78 % des cas).

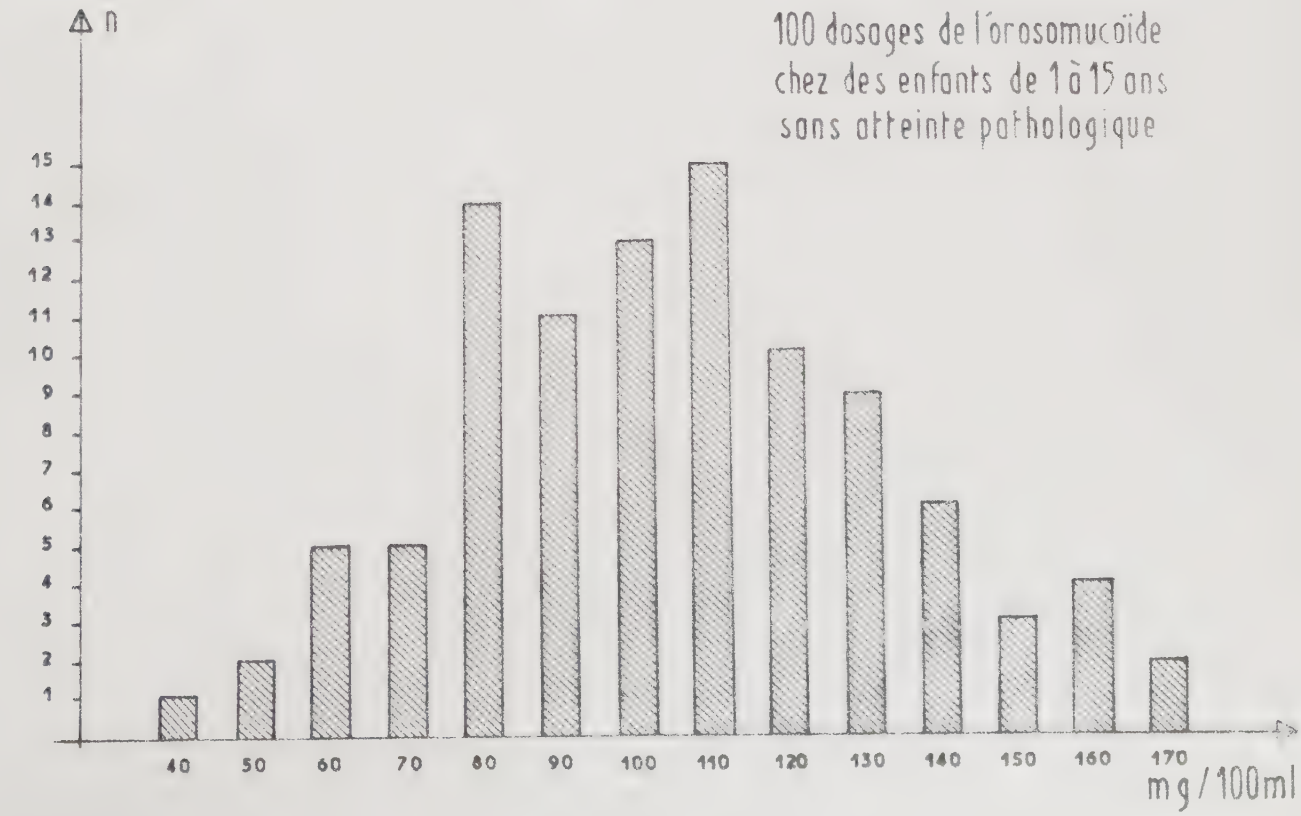
Nous constatons donc :

- des chiffres bas chez les grands prématurés.
- une montée progressive avec atteinte des taux moyens vers l'age de six mois.
- une valeur située autour de 100 mg dans les années suivantes.

ORØSOMUCOIDE mg/100 ml	Nombre de cas	%	Moyennes
30 - 40	1	12 %	30 - 70
40 - 50	2		
50 - 60	5		
60 - 70	5		
70 - 80	14	78 %	70 - 140
80 - 90	11		
90 - 100	13		
100 - 110	15		
110 - 120	10		
120 - 130	9		
130 - 140	6		
140 - 150	3	10 %	140 - 180
150 - 160	4		
160 - 170	2		
170 - 180	1		



Evolution du taux normal de l'orosomucoïde entre la naissance et un an.



100 dosages de l'orosomucoïde chez des enfants de 1 à 15 ans sans atteinte pathologique

C H A P I T R E C I N Q U I E M E

ETUDE DE NEUF OBSERVATIONS DE RHUMATISMES INFECTIEUX DE L'ENFANT

Chercher un témoin biologique du rhumatisme articulaire aigu, tel était le but de la première étude faite en 1965-1968. Nous avons vu que les résultats étaient difficilement exploitables du fait que ces dosages n'avaient été pratiqués, dans la majorité des cas, qu'une seule fois par malade et que la méthode était grossière.

C'est pourquoi nous avons repris sur un petit nombre de malades, rhumatisants authentiques, des dosages pendant la période d'hospitalisation. Les dosages d'orosomucoïde ont été effectués tous les quatre ou cinq jours ; en même temps, on étudiait le taux des antistreptolysines, la valeur de la fibrinémie et celle de la vitesse de sédimentation. On pourra voir ces quatre paramètres évoluer sur les courbes correspondantes tandis que seront notés en sus les incidents cardiaques éventuels ainsi que le traitement cortisonique.

PREMIERE OBSERVATION

S... Michèle, 10 ans, entre dans le service pour des douleurs abdominales intenses accompagnées de vomissements survenus au cours d'une crise arthralgique probablement d'origine streptococcique.

En effet, quinze jours après une angine érythémateuse traitée correctement, survient une gonalgie accompagnée de signes évocateurs d'atteinte streptococcique.

Les antécédents personnels et familiaux de cette enfant sont fort compliqués : un premier accident abdominal est survenu un an et demi auparavant ; l'appendicectomie pratiquée alors n'avait nullement amélioré les douleurs qui cédèrent seulement après un traitement corticoïde motivé par la découverte d'un souffle systolique organique ; on ne connaît malheureusement pas les doses médicamenteuses appliquées ni la durée. De plus, un cousin est atteint de purpura rhumatoïde récidivant avec fréquentes arthralgies et douleurs abdominales. L'origine ethnique de la famille a pu faire penser que les deux enfants étaient porteurs d'une maladie périodique.

Cependant, durant les premiers jours de l'hospitalisation, la rechute de rhumatisme articulaire aigu n'est pas mise en doute devant un syndrome biologique en faveur ; vers le quinzième jour, la persistance des douleurs abdominales auxquelles s'ajoutent des arthralgies des épaules et des poignets remet le diagnostic en question. La situation est d'autant plus troublante que le syndrome inflammatoire semble en voie de régression alors que les signes cliniques sont peu influencés par la thérapeutique hormonale et antibiotique.

On pose alors deux hypothèses diagnostiques en dehors du rhumatisme articulaire aigu :

1° <u>En faveur d'une maladie périodique</u>, beaucoup d'arguments peuvent être avancés :

- l'origine ethnique,
- les antécédents douloureux fébriles,
- le syndrome biologique associant hyperleucocytose, élévation de la vitesse de sédimentation, élévation du taux des antistreptolysines "O".
- l'inefficacité du traitement corticoïde sur les phénomènes douloureux,
- la récurrence des crises,

En défaveur de ce diagnostic, l'argument le plus décisif est bien la présence d'une insuffisance mitrale authentique alors que l'atteinte cardiaque semble inconnue dans la maladie périodique.

2° S'agit-il d'une collagènose ou d'un rhumatisme chronique de l'enfance au début de leur évolution ?

En effet, un lupus érythémateux disséminé, une maladie de Still prennent souvent le masque d'un rhumatisme articulaire aigü dans la période initiale ; en faveur de cette hypothèse, on trouvait :

- des arthralgies évocatrices des poignets et des genoux,
- un syndrome inflammatoire évident,
- une atteinte cardiaque,

Par contre, il n'a jamais existé :

- de signes cutanés,
- de signes biologiques (en particulier pas de cellules "LE" recherchées pourtant à trois reprises),
- de signes d'efficacité thérapeutique par le traitement hormonal.

L'hypothèse la plus cohérente nous semble faire appel à deux étiologies successives :

- un rhumatisme articulaire aigu compliqué de cardite actuellement non évolutive,
- une maladie périodique évoluant typiquement.

Le dosage de l'orosomucoïde a-t-il été utile à la compréhension de ces divers problèmes.? En ce qui concerne le syndrome inflammatoire, il semble que l'atteinte ait été relativement importante (300 mg au début) ; le retour à la

normale est intervenu seulement 40 jours après le début avec une légère remontée à l'apparition de nouvelles arthralgies des épaules et des poignets (quinzième jour) ; le retour à la normale des autres paramètres a précédé de peu celui de l'orosomucoïde. A l'instar des observations suivantes, nous n'avons pas constaté de baisse très rapide du taux des glycoprotéines comme il semble habituel dans les inflammations aigües.

S'agit-il plutôt d'une maladie inflammatoire chronique en poussée ? Il est bien difficile de l'affirmer avant d'avoir pu suivre une telle malade pendant quelques années.

En bref, cette observation peut nous faire entrevoir l'utilisation du dosage de l'orosomucoïde dans la mesure :

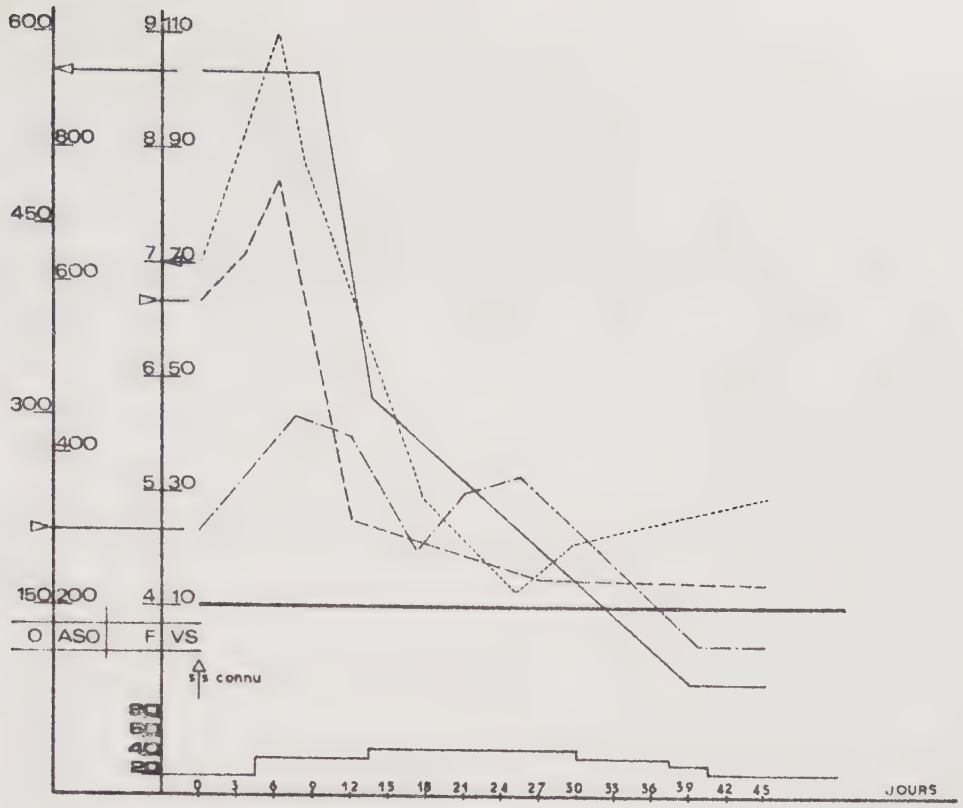
- où les taux suivent fidèlement l'évolution du syndrome inflammatoire,
- où l'on peut espérer déduire de l'allure de la courbe s'il s'agit d'une maladie aigüe ou chronique (plus longue durée du retour à la normale, baisse moins rapide des chiffres).

DEUXIEME OBSERVATION

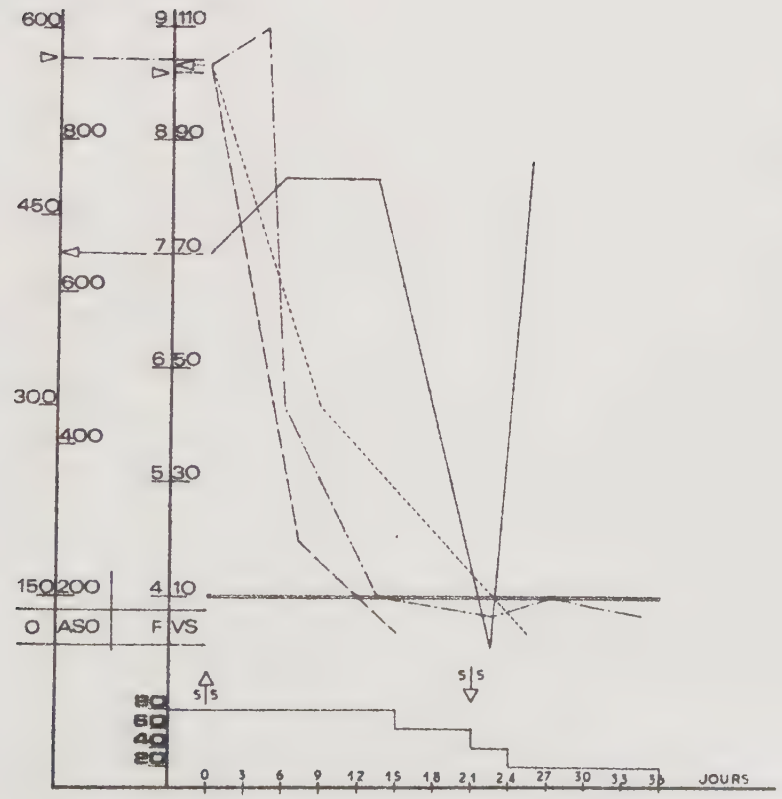
S... Franck, 6 ans, est adressé pour des arthrites de la cheville droite avec impotence fonctionnelle des deux membres inférieurs et température à 38° ; ces signes sont apparus dix jours après une angine. Au premier examen, on constate la présence d'un souffle systolique peu intense au foyer mitral.

Les premiers examens biologiques confirment le diagnostic de rhumatisme articulaire aigu ; tandis que les arthralgies des membres inférieurs persistent, apparaît une dyspnée accompagnée de cyanose ; l'examen physique découvre alors un frottement péricardique. Le traitement antibiotique et hormonal a rapidement amené la guérison et la disparition du souffle systolique.

Cette observation ne laisse aucun doute sur la nature de l'atteinte rhumatismale. Le taux d'orosomucoïde


600
800
450
600
300
400
150 200
O ASO
9 110
8 90
7 70
6 50
5 30
4 10
F VS
s/s connu
80
60
40
20
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45
JOURS

1


600
800
450
600
300
400
150 200
O ASO
9 110
8 90
7 70
6 50
5 30
4 10
F VS
s/s
s/s
80
60
40
20
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36
JOURS

2

est très élevé au départ (600 mg) en accord avec une vitesse de sédimentation très accélérée (120 à la première heure). Le retour des glycoprotéines à la normale, cette fois, a été plus rapide que celui de la vitesse de sédimentation traduisant peut-être la brièveté du syndrome inflammatoire malgré son intensité.

L'élévation des antistreptolysines est restée discrète (480 unités) sans grande utilité pour suivre l'évolution de la maladie ; le dosage de la fibrinémie ne fait que répéter les enseignements fournis par la valeur de la vitesse de sédimentation.

Mais, au contraire de la première observation, l'étude de la courbe de l'orosomucoïde montre un retour à la normale beaucoup plus rapide avec des taux de départ plus élevés. C'est un argument pour penser que dans les inflammations aiguës, l'élévation de la glycoprotéine est plus franche (supérieure à 300 mg) et le retour à la normale, plus rapide (10-15 jours).

TROISIEME OBSERVATION

Albert C..., 10 ans, entre dans le service pour une dyspnée d'effort avec paroxysmes douloureux thoraciques, fièvre ; un souffle systolique est récemment apparu. Une angine dysphagique non traitée a précédé cet épisode de un mois environ ; il a même existé alors des douleurs articulaires des genoux et des chevilles.

A l'entrée, le diagnostic ne fait pas de doute ; à côté de douleurs articulaires disséminées et de polypnée, l'examen montre un souffle systolique intense ; la vitesse de sédimentation est à 102 à la première heure ; l'apparition d'un frottement péricardique quelques jours après, ne fait qu'apporter un élément confirmatif supplémentaire. L'évolution est simple vers la guérison clinique incomplète, car il persiste une insuffisance mitrale et aortique très minimes.

L'évolution biologique est tout à fait comparable à celle de la deuxième observation ; l'orosomucoïde est re-

venue à la normale en 10 jours à partir d'un taux initial élevé (340 mg). La vitesse de sédimentation a suivi le taux des glycoprotéines. Les antistreptolysines n'ont jamais été très élevées. On peut déduire de cette courbe :
- le parallèlisme entre vitesse de sédimentation, fibrinémie et orosomucoïde sans qu'un de ces éléments n'apporte de renseignements plus valables que les autres.
- qu'il s'agit encore une fois d'un syndrome inflammatoire aigü d'évolution simple et résolutive (10 jours).

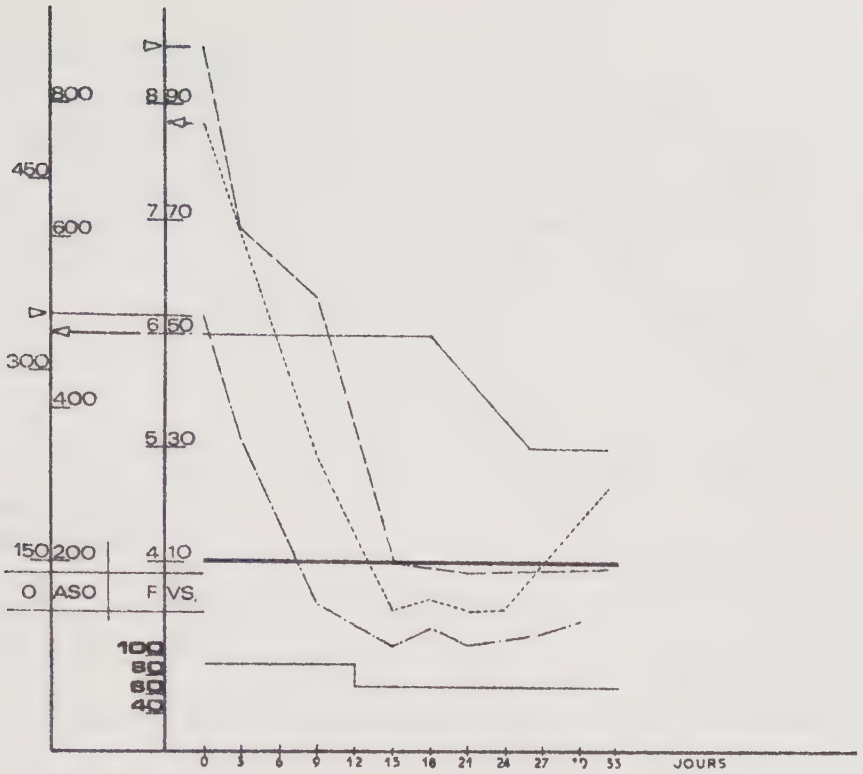
QUATRIEME OBSERVATION

Catherine L..., 10 ans, est admise pour des arthralgies et des douleurs de la fosse iliaque droite accompagnées de fièvre, survenant sur un terrain ORL infecté chronique. Un premier épisode semblable était survenu quinze jours auparavant et avait justifié un traitement antibiotique par une cycline.

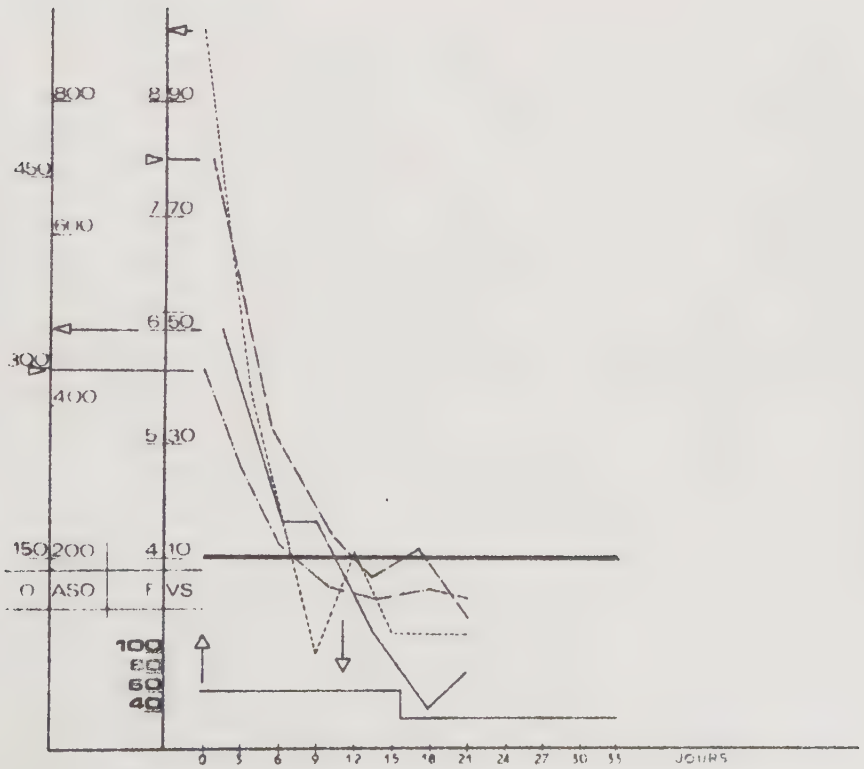
A l'entrée, le genou et l'épaule droites sont douloureux, les mouvements limités ; un souffle systolique apparaît en même temps tandis que l'électrocardiogramme montre une onde PR allongée à 0,18. L'enfant est mise rapidement au traitement et tous les signes s'effacent en un mois.

L'élévation de l'orosomucoïde est à 300 mg à l'entrée tandis que la vitesse de sédimentation est très accélérée, à 120 à la première heure. Le retour à des valeurs normales se fait en 10 jours avec un léger décalage en défaveur de la vitesse de sédimentation. Les antistreptolysines ne sont jamais élevées significativement. Il faut noter que l'enfant a subi une infection ourlienne pendant le séjour ; cette maladie n'a modifié en rien l'évolution des examens biologiques ; le traitement cortitocoïde est-il responsable de cette "anergie biologique" ou bien le syndrome inflammatoire surajouté n'était-il pas assez important pour déclencher des réactions décelables ? Pour la quatrième fois, on constate la présence d'une atteinte cardiaque en même temps qu'une élévation supérieure à 250 mg de l'orosomucoïde.

3


800
450
600
300
400
150 200
0 ASO
8 90
7 70
6 50
5 30
4 10
F VS.
100
80
60
40
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33
JOURS

4


800
450
600
300
400
150 200
0 ASO
8 90
7 70
6 50
5 30
4 10
F VS
100
80
60
40
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33
JOURS

CINQUIEME OBSERVATION

Nasser A..., 13 ans, est adressé dans le service pour une hydarthrose du genou droit apparue deux mois après une angine. De plus, de véritables arthrites de la cheville et du genou droit avaient précédé l'épisode actuel.

Quelques jours après l'admission, un souffle d'insuffisance mitrale avec troubles du rythme amènent la prescription d'un traitement hormonal et antibiotique. L'évolution est alors simple vers la guérison avec disparition du souffle systolique.

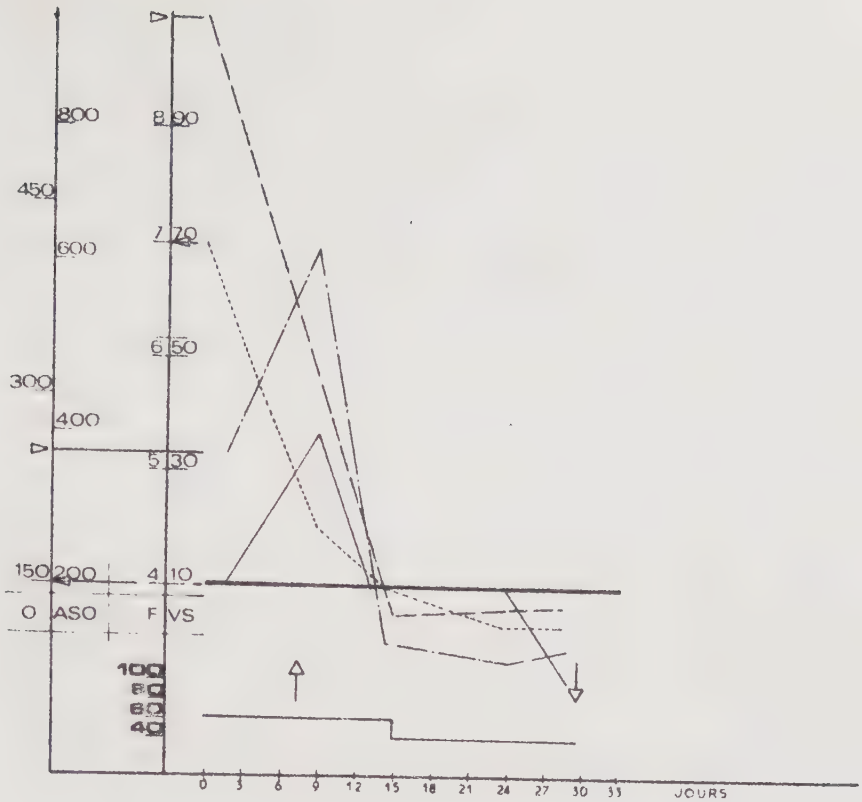
Dans cette observation, l'orosomucoïde s'est élevée tardivement (cinq jours après l'hospitalisation) alors que la vitesse de sédimentation était très accélérée (70 à la première heure). Le diagnostic, hésitant au début, a été confirmé par l'atteinte cardiaque. Quinze jours après l'admission, tous les examens biologiques étaient normaux ; cependant, la vitesse de sédimentation était descendue à 20 à la première heure alors que l'orosomucoïde persistait à 400 mg. Cette fois, le dosage des glycoprotéines se montre plus intéressant dans la mesure où il semble plus fidèle témoin de l'inflammation.

SIXIEME OBSERVATION

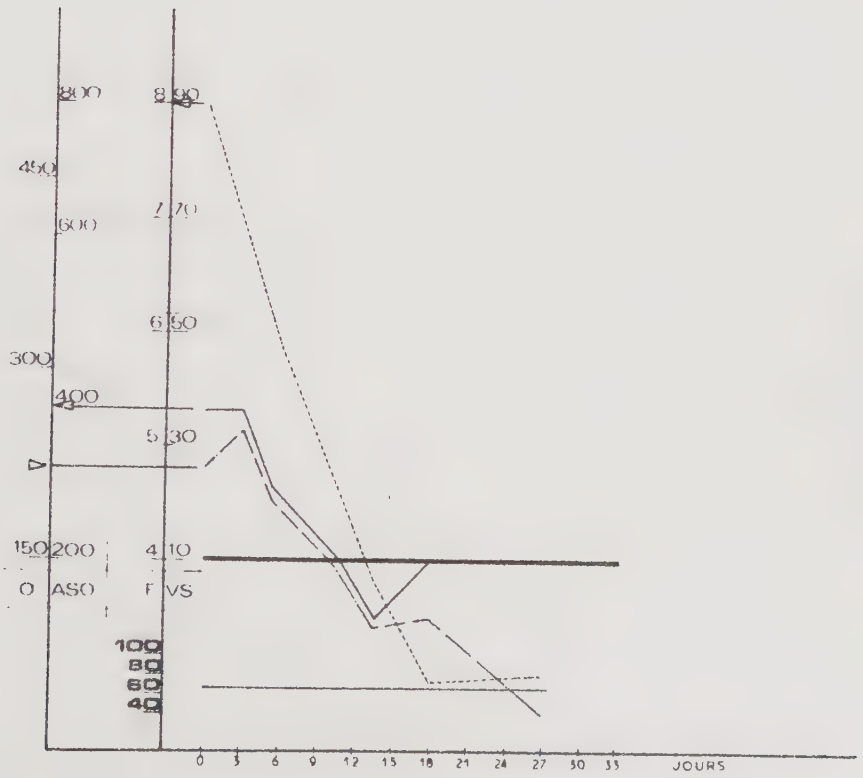
Franck G..., 14 ans, entre pour des arthrites des deux chevilles et du genou droit survenus dix jours après une scarlatine typique. A l'entrée, les bruits du coeur sont normaux, la température à 37°4, mais le lendemain, l'onde PR est allongée à 0,20, ce qui justifie une mise en route immédiate du traitement. L'évolution est simple, mais un souffle d'insuffisance mitrale persiste encore un mois après le début du traitement.

L'orosomucoïde s'est assez peu élevé dans cette observation (260 mg) alors que la vitesse de sédimentation était très accélérée. Le retour à la normale des deux paramètres a été contemporain (10 jours) ; les antistreptolysines sont peu élevées.

5


800
450
600
300
400
150 200
O ASO
F VS
100
80
60
40
8 90
7 70
6 50
5 30
4 10
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33
JOURS

6


800
450
600
300
400
150 200
O ASO
F VS
100
80
60
40
8 90
7 70
6 50
5 30
4 10
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33
JOURS

SEPTIEME OBSERVATION

Stéphane V..., 7 ans, est admis pour des arthrites et des arthralgies des chevilles et des mains apparues quinze jours après une rhino-pharyngite sévère accompagnée d'une otite ; la gorge de l'enfant est en très mauvais état avec des amygdales cryptiques, gorgées de pus.

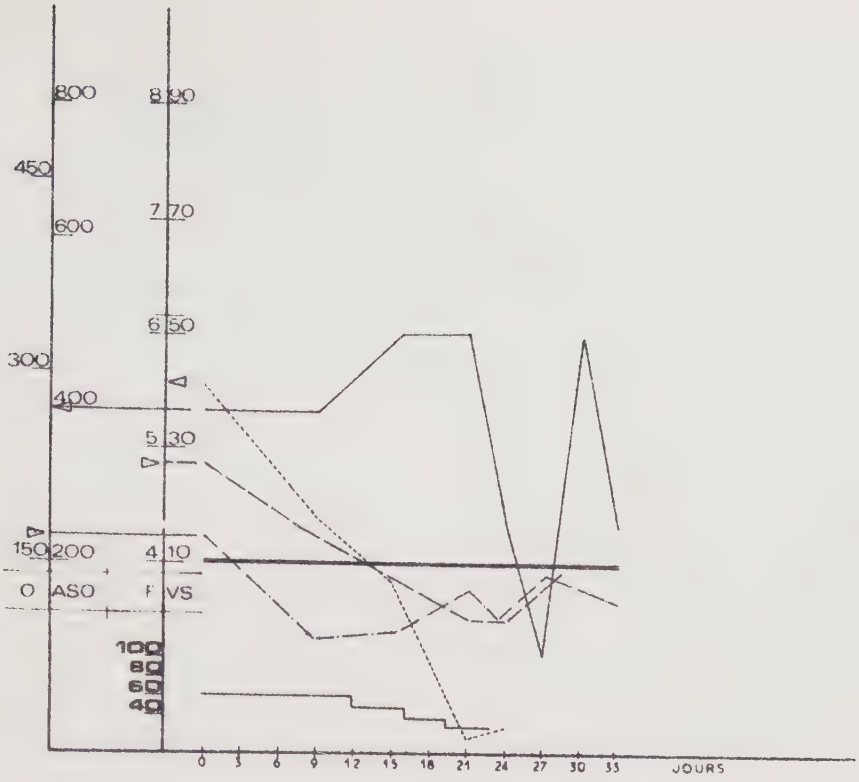
Trois jours après l'entrée, l'état général s'améliore mais l'électrocardiogramme montre une onde PR allongée à 0,20. Tout rentre dans l'ordre rapidement après la mise en place d'un traitement antibiotique et hormonal. L'enfant est revu trois mois plus tard pour de la fièvre, une vitesse de sédimentation à 45 mm à la première heure, survenus brusquement à l'arrêt du traitement corticoïde ; on ne trouve rien à l'examen clinique et on met cet épisode sur le compte d'un classique "rebond" souvent observé en fin de traitement hormonal. Depuis, les amygdales ont été enlevées et l'état de l'enfant est satisfaisant.

L'intérêt de cette observation ne se trouve pas dans la période aigüe de la maladie dont l'évolution est comparable aux cas précédents ; l'orosomucoïde s'est peu élevée (190 mg) montrant un syndrome inflammatoire peu intense que la clinique a vérifié. On a, par contre, eu la chance d'effectuer un dosage à l'arrêt du traitement cortisonique ; cela a permis de constater que les glycoprotéines participaient au phénomène de "rebond".

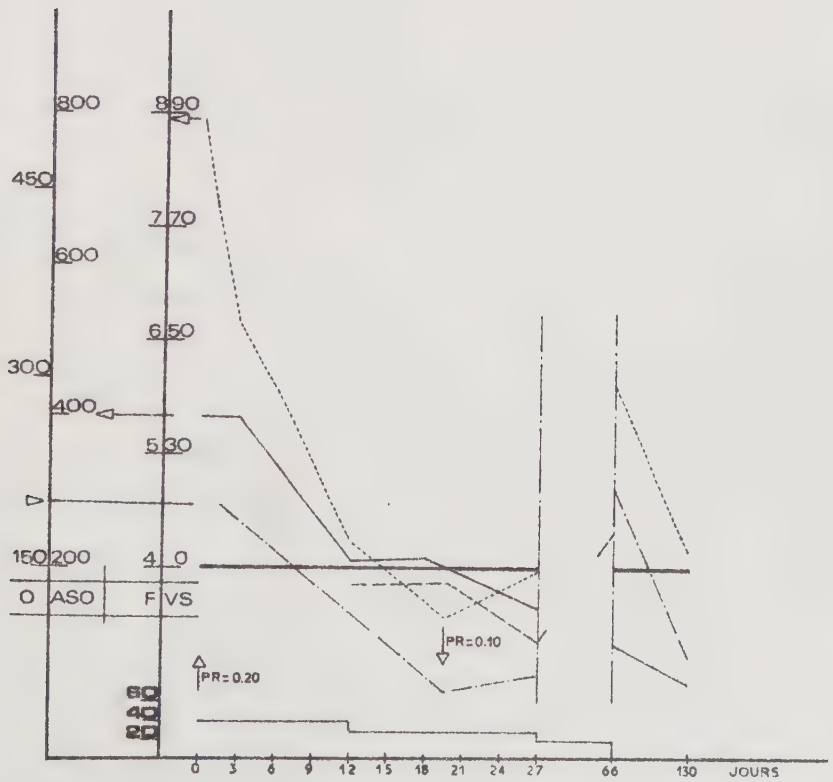
HUITIEME OBSERVATION

Carlos P... entre dans le service pour une rechute de chorée ; une première hospitalisation, en décembre 1970, était motivée par une hémi-chorée gauche ; depuis un mois, les parents avaient constaté que l'enfant marchait moins bien, lançant un peu la jambe gauche ; le père remarque de plus, des mouvements anormaux du bras gauche, sans douleur ni fièvre ; la soeur de Carlos est hospitalisée en même temps, également pour une chorée. L'enfant n'a jamais présenté de prodromes : ni amaigrissement, ni anorexie, ni angine, ni fièvre. Le diagnostic est étayé sur des arguments

7


800
450
600
300
400
150 200
0 ASO
8 90
7 70
6 50
5 30
4 10
F VS
100
80
60
40
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33
JOURS

8


800
450
600
300
400
150 200
0 ASO
8 90
7 70
6 50
5 30
4 0
F VS
PR=0.10
PR=0.20
80
40
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 66 130
JOURS

solides :

- la présence d'un streptocoque hémolytique dans la gorge,
- un syndrome inflammatoire homogène,
- une chorée certaine chez la soeur.

Un traitement à la pénicilline doit être rapidement arrêté devant une allergie et remplacé par une prescription de tétracycline à laquelle on ajoute du Majeptil.(x)

Lors du récent épisode, l'examen d'entrée ne laisse aucun doute sur la nature de la maladie : les mouvements anormaux sont typiques, la parole est scandée, le tonus est diminué ; il n'y a pas d'autres atteintes, en particulier cérébelleuses. Le reste de l'examen clinique est normal ; il n'existe surtout pas d'atteinte cardiaque clinique ou électrique. Le mauvais état dentaire et l'absence de prophylaxie expliquent probablement la rechute.
L'enfant est mis au traitement par propiocine et Majeptil(x) ; un traitement corticoïde est justifié par une sinusite importante ; l'évolution vers la guérison se fait sans complications.

Contrairement aux autres observations, l'intérêt du dosage de l'orosomucoïde n'est pas dans l'étude de son élévation qui est fort modeste et peu durable (160 mg) ; il est par contre remarquable que l'administration de corticoïdes a fait baisser les glycoprotéines ou mieux, que la chute de l'orosomucoïde a été contemporaine du traitement hormonal.

NEUVIEME OBSERVATION

Marie-Louise M..., 7 ans, dix jours après une angine traitée par la pénicilline, se plaint de douleurs de la hanche droite et du genou gauche. Au bout de quelques jours, une véritable arthrite du genou gauche amène l'hospitalisation. L'examen clinique est normal par ailleurs. L'électrocardiogramme montre cependant un discret allongement de l'onde PR, à 0,18. Au bout d'un mois de séjour, l'enfant sort avec le traitement habituel et tout rentre dans l'ordre.

De même que dans les cas précédents, l'orosomucoïde reste peu élevée (210 mg). On remarque également que l'atteinte cardiaque reste extrêmement peu importante si elle existe. L'hypothèse d'une correspondance entre la valeur des glycoprotéines et l'atteinte cardiaque éventuelle est suggérée par les trois dernières observations.

Que nous a appris le dosage des glycoprotéines dans les neuf cas de rhumatismes infectieux que nous avons étudié ?

I - CE QUI SEMBLE EVIDENT

1° La corrélation entre l'élévation de l'orosomucoïde et celles de la vitesse de sédimentation et de la fibrinémie ; en effet, au-dessus de 250 mg d'orosomucoïde, la vitesse de sédimentation est constamment supérieure à 70 mm à la première heure et la fibrine au-dessus de 4,50 g. Ces trois paramètres évoluent constamment dans les mêmes proportions et nous n'avons pas eu à observer de contradictions dans les résultats.

2° L'indépendance du taux des antistreptolysines vis-à-vis des tests témoins de l'inflammation.

3° L'intensité du syndrome inflammatoire est proportionnelle à l'élévation de l'orosomucoïde ; à chaque fois que les chiffres s'élèvent au-dessus de 250 mg, on est sûr que les signes cliniques et les signes biologiques seront au maximum ; il est remarquable de constater également que les atteintes cardiaques préoccupantes (péricardites et endocardites) sont toujours intervenues chez nos malades alors que le taux d'orosomucoïde était très élevé ; au contraire, lorsque l'atteinte cardiaque était mineure (allongement modéré de l'onde PR) ou absente, le taux d'orosomucoïde ne dépassait jamais 250 mg, même si la vitesse de sédimentation et la fibrinémie étaient très anormales.

4° La durée d'évolution : dans toutes les observations, sauf la première, le retour à la normale des différents paramètres n'excède pas dix à quinze jours, quelle que soit l'intensité du syndrome inflammatoire au début de la maladie.

II - LES QUESTIONS QUE L'ON SE POSE

1° Sur le vu des courbes, le parallèlisme de l'orosomucoïde et de la vitesse de sédimentation semble constant ; analysant un peu plus finement les courbes, on peut se rendre compte que l'alpha-1 glycoprotéine revient à la normale légèrement après la vitesse de sédimentation. Ce fait peut être considéré comme un avantage dans la mesure où cela permettrait de suivre plus finement l'évolution du syndrome inflammatoire et d'ajuster au plus près le traitement hormonal, ainsi éviterait-on peut-être des rechutes à l'arrêt du traitement.

Par contre, on peut aussi faire la critique de ce fait en admettant que l'inertie des variations est plus grande pour les glycoprotéines que pour la vitesse de sédimentation ; ceci expliquerait le retard de normalisation de l'orosomucoïde alors que le syndrome inflammatoire est terminé ; il est bien difficile de trancher nettement sur ce point devant un nombre d'observations aussi réduit pendant lesquelles nous n'avons pas eu à déplorer de rechutes ; par contre, nous avons pu suivre un "rebond" biologique qui a montré une élévation parallèle de la vitesse de sédimentation et de l'orosomucoïde.

2° L'action des corticoïdes influence les chiffres de l'orosomucoïde ; d'après les valeurs obtenues chez les sujets normaux, il semble que les rhumatisants possèdent des chiffres plus bas que la moyenne pendant le temps où ils sont soumis au traitement hormonal. Freinage de synthèse probablement, mais aussi excès d'excrétion ? Personne ne l'a encore montré.

CONCLUSION

Dès le premier chapitre, nous avons tenté de montrer comment on a pu isoler et doser spécifiquement l'alpha-1 glycoprotéine acide (orosomucoïde) ; en particulier, les méthodes modernes basées sur l'immunologie permettent, grâce à leur précision, de s'appuyer sur des résultats incontestables. Il reste que les délais d'obtention de ces résultats devraient être encore raccourcis (deux jours avec la méthode de MANCINI) afin que l'exploitation en clinique puisse être améliorée. La méthode de LAURELL permettra peut-être ce gain de temps indispensable bien qu'elle soit, pour l'heure, de maniement plus délicat que la première

La deuxième partie expose le résumé des connaissances actuelles sur le métabolisme de cette glycoprotéine particulière ; il faut bien avouer que cette étude n'est pas encore très avancée. En effet, si l'on connaît à peu près les étapes de la synthèse et de la dégradation de l'orosomucoïde, on ne sait pratiquement rien du rôle physiologique de cette protéine. Son élévation sérique constante dans les syndromes inflammatoires en fait cependant un témoin incontestable de leur évolution.

Entre 1965 et 1968, une étude avait été entreprise dans le but de trouver un témoin biologique spécifique de la maladie de BOUILLAUD. En effet, dans bien des cas, il est impossible de réunir, soit les deux critères majeurs, soit les deux critères mineurs et le critère majeur nécessaires au diagnostic positif selon JONES. Bien plus souvent, on se trouve devant de simples arthralgies, fugaces, qui surviennent après une infection des voies aériennes supérieures peu typique. Dans nombre de cas, c'est une monoarthrite accompagnée ou non de signes généraux qui attire l'attention. Dans ces conditions, on sait bien qu'il peut s'agir tout de même de véritables maladies de BOUILLAUD et, en définitive, les critères de JONES peuvent étayer le diagnostic s'ils sont présents, mais leur absence n'infirme pas la réalité de la maladie. C'est donc, en quelque sorte, dans le but d'ajouter un critère majeur, que des dosages systématiques de l'orosomucoïde furent pratiqués alors sur un grand nombre

de malades ; malheureusement, nous avons vu que les méthodes peu précises et le caractère statique des dosages n'ont pas permis de se faire une idée claire de la valeur diagnostique de cet examen.

Dans la pensée que les nouvelles méthodes permettraient de mieux cerner le problème, nous avons repris les dosages d'orosomucoïde en 1971-72, toujours avec la même idée de départ : poser le diagnostic de rhumatisme articulaire aigu dans les cas douteux.

Avant d'appliquer les dosages à la clinique, nous avons débuté cette étude par la détermination des chiffres normaux chez l'enfant ; pendant la première année de la vie, les chiffres progressent régulièrement entre 30 et 110 mg/100 ml. A partir de la deuxième année, le taux d'orosomucoïde est comparable à celui de l'adulte (entre 70 et 140 mg/100 ml.).

L'étude détaillée de neuf cas de rhumatismes aigus de l'enfant a permis de vérifier des connaissances déjà acquises :

- la fidélité de l'élévation de l'orosomucoïde dans les syndromes inflammatoires.
- la concordance entre l'évolution de cette protéine et celle des autres tests habituellement utilisés (vitesse de sédimentation, fibrinémie).
- la dépresstion de l'orosomucoïde par le traitement hormonal prolongé.

Mais ceci n'était pas évidemment le seul but que nous nous étions fixés ; dans l'état actuel de cette étude, il serait bien téméraire de tirer des conclusions de résultats dont la valeur statistique est nulle ; cependant, il a semblé intéressant de dégager à partir de ces quelques cas, les voies de recherche capables de nous approcher du but recherché.

Indéniablement, un taux d'orosomucoïde élevé traduit un syndrome inflammatoire aigu ; ce fait est corroboré par une accélération intense de la vitesse de sédimentation.

Dans les six cas où le diagnostic de rhumatisme articulaire aigu ne faisait aucun doute (polyarthrites, atteinte cardiaque, syndrome biologique en faveur d'une inflammation), le taux d'orosomucoïde a toujours été supérieur à 250 mg/100 ml au début de l'évolution de la maladie. Dans les trois cas où le diagnostic positif de la maladie de BOUILLAUD pouvait être mis en doute devant des atteintes plus frustes (arthralgies, minime allongement de l'onde PR, syndrome inflammatoire mineur, l'orosomucoïde n'atteignait jamais des valeurs supérieures à 250 mg/100 ml.

Au terme de ce travail, peut-on dire que le dosage de l'orosomucoïde peut être considéré comme un "nouveau critère majeur" ?

Dans notre courte expérience, le dosage n'a pas été en défaut dans les cas de rhumatismes certains ; dans les cas douteux, on n'a pas pu trancher mais, à notre avis, un taux élevé d'orosomucoïde doit être considéré comme un critère majeur, entraînant ainsi le diagnostic positif de la maladie de BOUILLAUD.

BIBLIOGRAPHIE

Nota bene : il est bien évident que nous n'avons eu, ni la possibilité, ni la capacité de consulter tous les ouvrages de référence. Cependant, il nous a semblé utile de consigner toutes les publications afin de pouvoir être éventuellement utile au lecteur, quelle que soit sa spécialité.

AGNERAY J. - Thèse Doct. Sciences, Lille, 1965.

ALPER C. A., PETERS J.H., BIRTCH A. G., GARDNER F. H. - J. CLIN. INVEST., 1965,44,574.

AMINOFF D. - Biochem. J. 1961,81,384.

ANDERSON A. J. - Biochem. J. 1962,82,372.

ANDREANI D. V., GRAY C. H. - Clin. Chim. Acta, 1956,1,7.

ATHINEOS E., WINZLER R. J. - Federation Proc., 1962,21,403.

BAIN J., JACKSON C. - Ann. Biol. Clin. 1954,12,80.

BANERJEE S., BHADURI J. N. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1959, 101, 340.

BARKER S. A., PARDOE G. I., STACEY M., HOPTON J. W. - In Peters H. 1963, XI, p. 284.

BARRY G. T., HAMM J. D., GRAHAM E. R. B. - Nature, 1963,200,806.

BERENSON G. S., FISHKIN A. F. - Arch. Biochem. Biophys. 1962, 97,18.

BERKMAN J., RIFKIN H., ROSS G. - J. Clin. Invest. 1953,32,414.

BERNIER G. M. - Clin. Chim. Acta, 1960,18,309.

BISERTE G. - Bull. Soc. Chim. Biol. 1957,39.

BISERTE G., HAVEZ R., HAYEM-LEVY A. - Clin. Chim. Acta, 1960, 5,272.

BOAS N. F. - J. Biol. Chem. 1953,204,553.

BONOMO E., SALTERI F. - Fisio. Clin. Comp. Glico. 1957.

BOURILLON R., GOT R., MEYER D. - Biochim. Biophys. Acta, 1963, 74,255.

BOURILLON R., GOT R., MEYER D. - Biochim. Biophys. Acta, 1964, 83, 178.

BOURILLON R., MICHON J. - Biochim. Biophys. Acta, 1960,44,608.

BOUSSIER G. - Thèse Doct. Sciences, Paris, 1960.

BROWN R. K., BAKER W. H., PETERKOFSKY A., KAUFFMAN D. L. - J. Amer. Chem. Soc. 1954, 76, 4244.

CABEZAS J. A., VASQUEZ-PORTO J., VASQUEZ-PERNAS R., PENA J. - Clin. Chim. Acta, 1962,7,406.

CATCHPOLE H. R. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1950,75,221.

CESSI C., PILIEGO F. - Biochem. J., 1960,77,508.

CHEFTEL R. I., CLOAREC L., MORETTI J., RAFELSON M., JAYLE M. F. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1960, 42, 993.

CLEVE H., STROHMEYER G. - Klin. Wochenschr., 1967, 45, 1051.

COLFS B., VERHEYDEN J. - Clin. Chim. Acta, 1965, 12, 470.

CONNEL G. E., SMITHIES O. - Biochem J., 1959,72,115.

CORNFORTH J. W., FIRTH M. E. - J. Chem. Soc., 1958,1091.

COURTOIS J. E., LABAT J. BARANCOURT N. - Ann. Biol. Clin., 1963, 21,383,393.

COURTOIS J. E., MALANGEAU P., CHABRE J. L. - Ann. Pharm. Fran., 1959,17,561.

CROCKSON R. C., PAYNE C. J., RATCLIFF A. P., SOOTHIL J. F. - Clin. Chim. Act., 1966,14,435.

DISCHE Z. - Biochem. Z., 1927,189,77.

DISCHE Z., SHETTLES L. B. - J. Biol. Chem., 1948,175,595 - 1951, 192,579.

ELSON L. A., MORGAN W. T. J. - Biochem. J., 1933,27,1824.

ENGEL M. B. - Arch. Pathol., 1952,53,339.

ENGEL M. B., CATCHPOLE H. R. - Proc. Soc. Biol. Med., 1953,84, 336.

ENGLESON G., LINDBERG T. - Acta Rheum. Scand., 1960,6,267.

EYLAR E. H. - J. Théor. Biol., 1967,10,89.

EYLAR E. H., JEANLOZ R. W. - J. Biol. Chem. 1962, 237,622.

FAHEY J. L., LAURENCE M. E. - J. Immunol., 1963,91,597.

FOLCH J., ARSOVE S., MEATH J. A. - J. Biol. Chem., 1951,191, 819.

FUJISAKI Y., SCHMID K. - Biochim. Biophys. Acta, 1965,700,306.

GABL F., HUBER H. - Wien. Klin. Wochschr., 1965,77,1037.

GIBBONS J. - Biochem., 1963,89,380.

GOA J. - Acta Scand., 1960,14,1790.

GOTTSCHALK A. - Glycoproteins. B. B. A. Library Elsevier, Amsterdam, 1966, vol. 5.

GOTTSCHALK A. - The Chimestry and Biology of Sialic Acidand Related Substances, Cambridge University Press, 1960.

GOTTSCHALK A., GRAHAM E. R. B. - In NEURATH H. ed. : The Proteins. Academic Press, New-York,1966, vol. 4, p. 95.

GREENSPAN E. M. - Adv. Intern. Med., 1953,91,474 - 1955,7,101.

HAUPT H., HEIDE K. - Clin. Chim. Acta, 1965,12,419.

HEISSKELL C. L., CARPENTER C. M., WEIMER H. E., NAGAGAWA S. - Ann. New-York Acad. Sci., 1961,94,183.

HOMMES F. A. - Clin. Chim. Acta, 1959,4,707.

HUERGA J. DE LA, DUBIN A., KUSHNER D. S., DYNIEWICZ H. A., POPPER H. - J. Lab. Clin. Med. 1956,47,403.

HUGHES R. C., JEANLOZ R. W. - Biochemistry, 1966, 5,253.

IZUMI K., MAHINO M., YAMASHINA J. - J. Biochem., 1962,51;365.

JAMIESON G. A. - Federation Proc., 1963,22,538.

JAVID J., HOROWITZ H. I.,- Amer. J. Clin. Path., 1960;34,35.

JAYLE M. F. - Bull. Soc. Chim. Biol., 195L,33,876.

JAYLE M. F.; BOUSSIER G. - Exposés annuels de Biochimie Médicale, 1955,17,157.

JAYLE M. F., CHOUBRAC P., DROSDOWSKI M. A., JACOT P. - P. Med., 1968,76,1805.

JAYLE M. F., VALLIN J. - Sem. Hop. Par., 1952,28,3133.

JAYLE M. F., DORMANN E. - Nouve; Rev. Fr. Hématiol., 1962,2,490.

JAYLE M. F., ENNUYER A., CHEMAMA R., BATAINI P., DETROUX L. - Sem. Hop. Paris, 1968,44,1861.

JEANLOZ R. W. - Arth. Rheum., 1960,3,233.

JEANLOZ R. W. - Abstracts III, Coll. XIV, 7th Congress of Biochemistry, Tokyo, 1967, p. 571.

KAMIYAMA S., SCHMID K. - Biochim. Biophys. Acta, 1962,63,266.

KELLEY V. C. - J. Pediat., 1952,40,413.

KLENK E., LANGERBEINS H. - Z. Physiol. Chem., 1941,270,185.

KLUTHE R., FAUL J., HEIMPEL H; - Nature, 1965,205,93.

KOECHLIN B. A. - J. Amer. Chem. Soc., 1952,74,2649.

KRAUSS S., SARCIONE E. J. - Biochim. Biophys. Acta 194,90,301.

KUNKEL H. G., FRANKLIN E. C., MULLER-EBERHARD H. J. - J. Clin. Invest., 1959,38,424.

KUSHNER D. S., HONIG K., DUBIN A., DYNIEWICZ H. A., BRONSKY D., DE LA HUERGA J., POPPER H. - J. Lab. Clin. Med., 1956,47,409.

LABAT J. - Thèse doct. Etat Pharm. Paris, 1961.

LABAT J., BERGER N. - Clin. Chim. Acta, 1967,15,259.

LABAT J., ISHIGURO M., FUJISAKI Y., SCHMID K. - J. Biol. Chem., 1969,244,4975.

LABAT J., SCHMID K. - Experienta, 1969,25,701.

LARSKY E. G. - Vopr. Med. Khim, 1961,7,505.

LAURELL C. B., NYMAN M. - Blood, 1957,12,493.

LEDVINA M., CONFALOVA S. - Clin. Chim. Acta, 1961,6,16.

LOMBART C., NEBUT M., OLLIER M. P., JAYLE M. F. HARTMANN L. - Rev. Franç. Etudes Clin. Biol., 1968,13,258.

LOPEZ V., GOLDER S. - Clin. Chim. Acta, 1968,21,517.

MANCINI G., VAERMAN J. P., CARBORARA A. O., HEREMANS J. F. - In Peeters H. ed., Protides of the biologiccal fluide, Elsevier, Amsterdam, 1964,XII, 370.

MANCINI G., CARBONARA A. O., HEREMANS J. F. - Immunochemistry, 1965,2,235.

MARKHAM R. L. - Nature, 1956,125,177.

MARKS G. S., MARSHALL R. D., NEUBERGER A. - Biochem., 1963,87, 274.

MARTIN J., BADIN J. - Ann. Biol. Chem., 1957,15,675.

MARSHALL W. K., PORATH J. - J. Biol. Chem., 1965,240,209.

MEHL J. W., GOLDEN F., WINLER R. J. - Proc. Soc. Exp. Biol. Mod. 1949,72,106.

MILLER L. L., BALE W. F. - J. Exp. Med., 1954,99,125.

MONTREUIL J. - Réunion commune de la Société de Chimie Biologique et du Club Français du Tissu Conjonctif, Paris, 1968.

MONTREUIL J., BISERTE G. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1959,41,959.

MORETTI J., WAKS M. - In Jayle M; F. ed. : Les Haptoglobines, Masson, Paris.

MOSCHIDES E., STEFANINI M., MAGALINI S. I., KISTNER S. A., MELE R.- J. Clin. Invest., 1958,37,127.

MOURAY H., MORETTI J., JAYLE M. F. - C. R. Acad. Sci., 1964, 259, 2721.

MULLER-EBERHARDT H. J., KUNKEL H. G. - J. Exp. Med., 1956,104,253.

MULLER-EBERHARDT H. J., KUNKEL H. G., FRANKLIN E. C. - Proc. Soc. Exp. Biol. Mod., 1956, 93,146.

MUSIL J. - Clin. Chim. Acta, 1961,6,508.

NETTELBLADT E., SUNDBLAD L. - Acta Rheum. Scand., 1961,4,161 - 161,7,35 - 1962,8,57.

NEUHAUS O. W., BALEGRO H. F., CHANDLER A. M. - Proc Soc. Exp. Biol. Med., 1963,107,

NEUHAUS O. W., BALEGRO H. F., MILAUSKAS A. T. - Exp. Mol. Pathol. 1967,2,183.

NEUHAUS O. W., LIU A. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1964,117,244.

NIAZI S., STATE D. - Cancer Res., 1948,8,653.

NYMAN M. - Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1959,11,87.

OWEN J. A., BETTER M., HOBAN J. - J. Clin. Path., 1960,13,1963.

PAGET M., COUSTENOBLE P. - Ann. Biol. Clin., 1966,24,181.

PAGET M., FRUCHART G. - Le problème du RAA en pratique médicale, Paris, 1961.

PAQUIN R., PERCHERON F. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1963,45,101.

PANLITSCHKO M., WEIPPL G. - Clin. Chim. Acta, 1968,19,439.

PAPKOFF H. - In Gottchalk, op. cit.

PERLES R., TODOROVITCH K. - Ann. Biol. Clin., 1956, 14,697.

PETERMANN M. L., HOGNESS K. I. - Cancer, 1948,1,104.

PILLEMER L. - Chem. Rev., 1943,33,1.

PILLEMER L., ECKER E. E., ONCLEY J. L., COHN E. J. - J. Exp. Med. 1941,74,297.

POLONOVSKI M., JAYLE M. F. - C. R. Soc. Biol., 1938,129,457.

PRICE W. H., MATANOSHI G. M., MORRISON D., PREWER A., WAGNER G. - Bull. Hohn Hopkins Hosp., 1961,108,227.

PUTMAN F. W. - In Neurath H., op. cit.

REUTTER W., HULTSCH E. - Abstarcts 6th Meeting F. E. B. S. Madrid, 1969,259,

RICHMOND J. E. - Biochemistry, 1963,2,676.

ROBERTS L. B. - Clin. Chim. Acta, 1967,16,69.

RUINEN L., SCHOLTEN J. H., MANDEMA E. - Clin. Chim. Acta, 1968, 19,49.

SANDOR G., ORLEY C., KRAUX W., KORACH S. - Ann. Inst. Pasteur, 1967,112,747.

SARCIONE E. J. - Arch. Biochem. Biophys., 1963,100,516.

SARCIONE E. J., BOHNE M., KRAUXX S. - Federation Proc., 1965, 24, 230.

SATAKE M., OKUYAMA T., ISHIHAMA K.,,SCHMID K. - Biochem. J., 1965,95,749.

SCHLOSS B. - Ann. Chem., 1951,23,1321.

SATO T., YANAGISAWA I., ASADA T. - Jap. J; Exp. Med., 1967,37, 273.

SCHMID K. - J. Amer. Chem. Soc., 1953, 75,60.

SCHMID K. - In Altman P. L., Dittmer D. S. ed. Blood and Other Body Fluids, Fed. Amer. Soc. Exp. Biol., Washington, 1961,p.49.

SCHMID K., POLIS A., HUNZIKER K., FRICKE R., YATOSHI M. - Biochem. 1967,104,361.

SCHULTZE H. E. - Scand. Clin. Lab. Invest., 1958,10,135.

SCHULTZE H. E. - Deutsch. Med. Wochschr., 1958,83,1742.

SCHULTZE H. E., GOLLNER I., HEIDE K., SCHONENBERGER M., SCHWICK G. - Z. Naturforsch, 1955, 10b,463.

SCHULTZE H. E., HEIDE K., HAUPT H. - Clin. Chim. Acta, 1962,7, 854.

SCHULTZE H. E., HERMANS J. F. - Molecular Biology of Human Proteins. Elsevier, Amsterdam, 1966,vol. 1.

SCHULTZE H. E., SCHMIDTBERGER R., HAUPT H. - Biochem. Z., 1958, 329,490.

SCHULTZE H. E., SCHWICK G. - Behringwerke Mitt., 1958,35,57.

SCHUMACHER W., SCHLUMBERGER H. D. - Deutsch. Med. Wochschr., 1963,88,645.

SCHWICK G., HAUPT H., HEIDE K. - Klin. Wochenschrift.,1968,46, 981.

SEIBERT F. B. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1943;52,219.

SEIBERT F. B., PFAFF M. F., SEIBERT M. V. - Arch. Biochem. Biophys.,1948,18,279.

SHETLAR M. R., FOSTER J. V., EVERETT M. R. - Proc. Soc. Exp. Med.,1948,67,125.

SHETLAR M. R., FOSTER J. V., KELLY K. H., EVERETT M. R. - Proc. Soc. Exp. Med.,1948,69,507.

SHETLAR M. R., HERN D., BRADFORD R. H., ENDICOTT B. - Biochim. Biophys. Acta, 1961,53,615.

SHETLAR M. R., LACEFIELD E. G., WHITE B. N., SCHILLING J. A. - Proc. Soc. Exp.Biol. Med.,1959,100,501.

SHETLAR M. R., ERWIN C. P., EVERETT M. R. - Cancer Res.,1950. 19,445.

SHETLAR M. R., FORSTER J. V., KELLY K. H., SHETLAR C. L., BRYAN R. S. EVERETT M. R. - Cancer Res.,1949,9,515.

SMITH E. L., BROWN D. N., MACFADDEN M. L., BUETTNER-JANUSH V., JAGER B. V. - J. Biol. Chem.,1955,216,601.

SONNET J. - Les glycoprotéines sériques à l'état normal et pathologique, Arscia, Bruxelles, 1956.

SPIRO R. G. - New England j. Med., m963,269,566,572 - 1969, 30,991,1056.

STARY Z. - Bull. Fac. Med. Istamboul, 1950,13,243.

STARY Z. - Ergeb. Physiol. Biol. Chem. Exp. Pharmakol., 1959, 50,174.

SUDHOF H., KELLNER H. - Biobliotheca Paediatr., 1957,asc. 65.

SUNBLAD L., WALLIN-NILSSON M. - Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1962,14,72.

SVENNERHOLM L. - Arkiv för Kemi, 1956,44,577.

SVENNERHOLM L. - Nature, 1958,181,4616.

VAUX-SAINT-CYR C. de, COURCON J., GRABAR P. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1958,40,579.

WARREN L. - J. Biol. Chem., 1959;234,1971.

WERNER I. - Acta Physiol. Scand., 1949,19,27.

WERNER I., ODIN L. - Acta Soc. Med. Upsaliensis, 1952,57,230.

WEIMER H. E., MEHL J. W., WINZLER R. J. - J. Biol. Chem., 1950,185,561.

WEIPPL G. - Helv. Maediat. Acta, 1961,16,40.

WHITE B. N., SHETLAR M. R., SCHILLING J. A. - Ann. New-York Acad. Sci., 1961,94,297.

WINZLER R. J.,- In Glick D., ed. Methods in Biochemical Analysis New-York, 1955.

WINZLER R. J. - In Wolstenholme G. E. W., O'Connor M., ed. Chemistry and Biology of Mucopolysaccharides. Churchill, London, 1958,P. 245.

WINZLER R. J. - In Putman F. W., ed. The Plasma Proteins Acad. Press, New-York, 1958.

WINZLER R. J. - In Jeanloz R. W., Balazs E. A., ed. The Amino Sugars, Acad. Press, New-York, 1965.

WINZLER R. J. - Clin. Chem., 1965,11,339.

WINZLER R. J., INOUYE - Chem. Soc. Saint-Louis, 1961.

YAMAGAMI K., SCHMID K. - J. Biol. Chem., 1967,242,4176.

YAMAGAMI K., LABAT J., PANDEY R. S., SCHMID K. - Biochem., 1968,7,2873.

YAMAMOTO A., MIYASHITA C., TSUKAMOTO H. - Chem. Pharm. Bull., 1965,13,1041.

YAMASHINA I., MAJINO M., BAN-I K., KOJIMA T. - J. Biochem, 1965,58,168.

VU
et permis d'imprimer

LE DOYEN

Le Recteur de l'Académie
de PARIS

H. JEROME

R. MALLET

Le Professeur

R. MANDE